République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Aboubekr Belkaïd -Tlemcen-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

**LABORATOIRE**

Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

**THESE**

En vue de l'obtention du diplôme de

**DOCTORAT**

En Biologie Cellulaire et Biochimie

**Option**

Substances à visée thérapeutique

**Présentée par**

M[elle] ADIDA Houria

**Thème**

# Étude des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de *Pituranthos scoparius* Benth et Hook « Guezzah » : plante médicinale endémique du Sahara.

Soutenue le :

Devant le jury composé de :

| | | |
|---|---|---|
| Président : | Pr. Boucherit Kebir | Centre Universitaire d'Aïn Témouchent |
| Directeur de thèse : | Pr. Djaziri Rabah | Université de Tlemcen |
| Examinateurs : | Pr. Boucherit-Otmani Zahia | Université de Tlemcen |
| | Pr. Hassaine Hafida | Université de Tlemcen |
| | Dr. Makhloufi Ahmed | Université de Béchar |

Année universitaire : 2014-2015

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ (2) الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ (3) مَالِكِ يَوْمِ الدِّينِ (4) إِيَّاكَ نَعْبُدُ وَإِيَّاكَ نَسْتَعِينُ
(5) اهْدِنَا الصِّرَاطَ الْمُسْتَقِيمَ (6) صِرَاطَ الَّذِينَ أَنْعَمْتَ عَلَيْهِمْ غَيْرِ الْمَغْضُوبِ عَلَيْهِمْ وَلَا
الضَّالِّينَ (7)

صَدَقَ اللهُ الْعَلِيُّ الْعَظِيْمُ

*Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux.*

*Louange à Allah, Seigneur de l'univers (2) Le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux (3) Maître du Jour de la rétribution(4) C'est Toi [Seul] que nous adorons, et c'est Toi [Seul] dont nous implorons secours (5) Guide-nous dans le droit chemin (6) le chemin de ceux que Tu as comblés de faveurs, non pas de ceux qui ont encouru Ta colère, ni des égarés (7).*

# Dédicaces

*Je dédie spécialement cette thèse à mes parents, pour leurs encouragements, leur tendresse, leur amour et leur soutien durant mes études.*

*À mes grands pères*

*À mes sœurs et frères et ma belle sœur*

*À mes nièces et mon neveu*

*À toute ma famille et mes amis*

*Houria*

# Remerciements

Mes remerciements les plus sincères s'adressent à Monsieur **Djaziri Rabah**, professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, d'avoir accepté la direction de cette thèse, et pour l'intérêt qu'il a donné pour accomplir ce travail. Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et ma gratitude pour sa disponibilité, sa patience, ses conseils, sa compréhension, ses qualités pédagogiques et scientifiques**.** Veuillez trouver ici, Monsieur ma reconnaissance et tout mon respect.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur **Boucherit Kebir**, Professeur au Centre Universitaire d'Aïn Témouchent, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de juger ce travail et de présider le jury de cette thèse.

Une grande part de ma reconnaissance s'adresse à Madame **Boucherit-Otmani Zahia**, Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen et directrice du laboratoire «Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique» pour m'avoir chaleureusement accueilli dans son laboratoire, ainsi que pour son aide moral et scientifique. Je la remercie infiniment pour sa sympathie et sa gentillesse. Veuillez trouver ici Madame l'expression de mes remerciements les plus chaleureux.

J'exprime mes sincères remerciements à Madame **Hassaine Hafida**, Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner et discuter ce travail.

Je tiens à remercier Monsieur **Makhloufi Ahmed**, Maître de conférences Classe A à l'Université de Béchar, pour l'honneur qu'il m'a fait d'être examinateur de cette thèse. Qu'il trouve dans cette thèse le témoignage de ma sincère reconnaissance.

J'adresse ma gratitude à Madame **Benariba Nabila,** Maître de conférences Classe B au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen pour son aide variée, ses conseils et ses encouragements.

Je remercie vivement Monsieur **Seghir Abdelfettah**, Docteur en biologie, pour sa disponibilité, ses conseils et sa lecture attentive du manuscrit. Je vous adresse ma profonde reconnaissance pour vos remarques et vos conseils en vue d'améliorer ce manuscrit.

J'adresse un remerciement spécial à Monsieur **Neguadi Bachir**, herboriste de la région de Knadessa, Wilaya de Béchar, pour sa disponibilité et son aide précieuse dans la récolte de la plante.

Je tiens aussi à mentionner le plaisir que j'ai eu en travaillant au sein du laboratoire «Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique» et j'en remercie l'ensemble des doctorants ainsi que les techniciens du laboratoire pour leur amitié, leur bonne humeur et leur aide. Vous étiez ma deuxième famille.

Je tiens à remercier tout particulièrement les membres de ma famille, pour leur présence constante, leur soutien et leur aide inestimable.

Enfin, mes remerciements s'adressent à tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce modeste travail.

## *Avant- propos*

---

Les travaux qui ont fait l'objet de cette présente thèse ont été réalisés au laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique (LapSab), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd, Tlemcen - Algérie.

Notre problématique s'inscrit dans un axe de recherche pluridisciplinaire qui concerne l'étude des activités biologiques et pharmacologiques des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle.

L'approche ethnopharmacologique a été adoptée afin de recenser et inventorier les plantes utilisées par la population de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Les plantes sélectionnées sont étudiées pour leur efficacité et leur toxicité. L'étude phytochimique du matériel végétal est également entreprise en vue de déterminer leur composition en composés naturels et de rechercher les composés actifs.

# الملخص

أصبحت المقاومة ضد المضادات الحيوية ، مشكل يهدد الصحة العامة و ذلك بسبب اكتساب الكائنات المجهرية المسببة للامراض مقاومة ضد العديد من المضادات الحيوية. البحث عن بدائل طبيعية فعالة يعد محور اساسي للحد من هته الظاهرة، و لهذا تعد النباتات الطبيعية المستعملة في الطب التقليدي البديل الامثل لحل هته الاشكالية.

قمنا في هذه الدراسة باختيار النبتة: *Pituranthos scoparius* المعروفة باسم "القزاح" على اساس تحقيق ميداني قمنا به على مستوى منطقة بشار، تستخدم هته النبة كعلاج فعال للعديد من الامراض.

بعد تحضير مختلف المستخلصات المائية و العضوية ، تمتت دراسة مختلف المكونات الكميائية لكل مستخلص ، النتائج المتحصل عليها تبين غنى النبتة بمختلف العائلات من المركبات الكميائية بنسب متفاوتة، و ذلك على حسب جزء النبتة المستعمل، المذيب و طريقة الاستخراج.

لدراسة فعالية النبتة كمضاد للاكسدة قمنا باستعمال طريقتين : الاولى طريقة الكسح الراديكالية المضادة للاكسدة على DPPH و الثانية طريقة ارجاع الحديد (FRAP) . النتائج المتحصل عليها تبين فعالية هته النبتة كمضادة للاكسدة .

تطرقنا ايضا لداسة نشاط المركبات المستخرجة على السلالات البكتيرية ، الخمائر و العفن بطرق نوعية و كمية موحدة. تبين النتائج ان المستخلصات الخامة Eau/méthanol Eau/acétone المتحصل عليها بطريقة النقع لمدة 24 ساعة اثبتت فعالية ضد الميكروبات مقارنة بالمستخلصات الاخرى.

و اخيرا قمنا بدراسة سميَة المستخلصات الفعالة ، اظهرت النتائج ان المستخلصات المتحصل عليها بطريقة الاستخراج مع التسخين تتعتبر اقل سميَة من باقي المستخلصات.

سمحت لنا النتائج الاولية بمعرفة فعالية المستخلصات الخام كمضادة للاكسدة و مضادة للميكروبات التي تستحق دراسات بيولوجية كيميائية واسعة و معمقة بغية عزل المركبات المسؤولة عن فعالية النبتة .

**الكلمات المفتاحية**: النباتات الطبية، المركبات الثانوية، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات، النشاط المضاد للاكسدة، التسمم.

# *Résumé*

L'antibiorésistance est devenue un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Les micro-organismes responsables des maladies infectieuses deviennent insensibles aux antimicrobiens conventionnels. Ainsi, la recherche de nouvelles molécules actives devient impérieuse afin de lutter contre ce phénomène. Les composés naturels, issus de plantes constituent une voie intéressante à explorer. Cette étude est consacrée à l'évaluation des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes d'extraits aqueux et organiques de *Pituranthos scoparius* Benth et Hook, plante médicinale native du Sahara. Elle a été sélectionnée sur la base d'une enquête ethnopharmacologique réalisée auprès de la population de la région de Béchar, qui a révélé que cette plante est utilisée comme remède pour soigner de nombreuses maladies. L'analyse phytochimique des extraits a révélé une composition et une répartition variable en métabolites secondaires selon l'organe de la plante, le solvant et la méthode d'extraction utilisée.

L'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits a été faite par deux méthodes, le piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer (FRAP). Les résultats montrent que les extraits présentent une activité antioxydante intéressante. L'étude de l'activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis d'un certain nombre de souches bactériennes, de levures et de moisissures par des techniques qualitatives et quantitatives standardisées afin de déterminer les CMI et les CMB a montré que le pouvoir antimicrobien des extraits bruts eau/méthanol et eau/acétone obtenus par macération pendant 24h de la partie aérienne, est plus important comparé à celui des autres extraits.

L'évaluation de la cytotoxicité des extraits de *Pituranthos scoparius* a montré que les extraits obtenus par la technique d'extraction sous reflux en chauffant sont moins toxiques que les autres.

En conclusion, ces résultats préliminaires nous ont permis de mettre en évidence l'effet antimicrobien et antioxydant des extraits bruts de *Pituranthos scoparius*, qui méritent des études chimiques et biologiques approfondies afin d'identifier et de caractériser les composés responsables de ces activités et tenter de connaitre leurs mécanismes d'action en vue d'être utilisés comme agent antimicrobien seuls ou comme adjuvant aux antimicrobiens conventionnels.



**Mots clés** : plante médicinale, *Pituranthos scoparius*, métabolites secondaires, activité antibactérienne, activité antifongique, activité antioxydante, toxicité.

## *Abstract*

Antibiotic resistance has become a major public health problem over the world. The micro-organisms responsible for the infectious diseases become immune to conventional antimicrobials. Thus the research for new active molecules becomes imperative. The natural compounds from plants are an interesting source to explore. This study is devoted to the evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of aqueous and organic extracts from *Pituranthos scoparius* Benth and Hook, native medicinal plant of the Sahara. The plant was selected on the basis of ethnopharmacological investigation of the population of Bechar, which revealed that this plant is used as a remedy to cure many diseases. The phytochemical analysis of extracts revealed a variable composition and distribution of secondary metabolites according to the organ of the plant, the solvent and the extraction method.

The evaluation of the antioxidant activity of different extracts was done by two methods: trapping of free radical DPPH and the reduction of iron (FRAP). The results show that the extracts have interesting antioxidant activity. The antimicrobial activity of different extracts was determined on bacterial strains, yeast and mold, using standardized qualitative and quantitative techniques to determine the MIC and MBC. The results show that the antimicrobial potency of the crude extracts aqueous/methanol extract and aqueous/acetone extract obtained by maceration (24h) of the aerial part is more important compared to other extracts. The evaluation of the cytotoxicity of extracts of *Pituranthos scoparius* showed that the extracts obtained by heating are less toxic than the others.
In conclusion, these preliminary results have allowed us to highlight the antioxidant and the antimicrobial effect of crude extracts of *Pituranthos scoparius* that deserve extensive chemical and biological studies to identify and characterize the compounds responsible for these activities and attempt known to elucidate their mechanism of action in order to be used as antimicrobial agent alone or an adjunct to conventional antimicrobials.

**Keywords:** Medicinal plant, *Pituranthos scoparius,* secondary metabolites, antibacterial activity, antifungal activity, antioxydant activity, toxicity.

# TABLE DES MATIERES

## Liste des tableaux

# Liste des figures

# Liste des abréviations

| | |
|---|---|
| AmB | : Amphotéricine B |
| ATCC | : American Type Culture Collection |
| BHT | : Buthylhydroxytoluéne |
| CLSI | : Clinical and Laboratory Standards Institue |
| CMI | : Concentration Minimale Inhibitrice |
| DMSO | : Diméthyl sulfoxide |
| DPPH | : 2,2-Diphényle-1-Picryl- Hydrazyl |
| FDA | : Food and Drug Administration |
| FRAP | : Ferric reducing antioxidant power |
| Gent | : Gentamicine |
| $IC_{50}$ | : Concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH |
| IP | : Institut Pasteur |
| MNHN | : Muséum National d'Histoire Naturelle |
| MOPS | :3-(N-morpholino) propanesulfonic acid |
| NCCLS | : National Clinical Committee Laboratory Standards |
| OMS | : Organisation Mondiale de la Santé |
| PBS | : Phosphate buffered saline |
| RPMI | :Roswell Park Memorial Institute |
| UFC | : Unité Formant Colonie |

# *Introduction générale*

La découverte et le développement d'antibiotiques ont conduit à une amélioration considérable de la capacité à traiter les maladies infectieuses et constituait une grande prouesse de la médecine moderne et une avancée majeure pour l'humanité au 20$^{éme}$ siècle. En 1928, le scientifique britannique, Alexander Fleming a accidentellement observé un potentiel bactéricide de *Penicillium notatum*, et donc le premier antibiotique, la pénicilline, était découvert. Par la suite, le cours de la découverte de médicament et de la thérapie a complètement changé **(Liu *et al*., 2004)**. À l'heure actuelle, en raison de l'utilisation excessive et inadéquate des antibiotiques, cette avancée se trouve largement compromise par le phénomène d'antibiorésistance, qui s'est développé et s'est répandu **[(Kollef, 2001) ; (Komolafe, 2004) ; (Salgado *et al*., 2005)]**.

Par ailleurs, et malgré le progrès réalisé par la chimie pharmaceutique ces dernières décennies, en particulier la chimie combinatoire, qui permet la synthèse d'un grand nombre de nouvelles molécules originales et de la grande capacité de criblage pharmacologique à haut débit, très peu de ces molécules ont atteint le stade d'usage clinique comme agents antimicrobiens, en raison de leur toxicité ou effets secondaires ou autres problèmes d'ordre pratique multiples **(Singh, 2012)**.

Face à ces nombreux obstacles, il est indispensable de rechercher de nouvelles substances antimicrobiennes efficaces et à large spectre d'action. L'une des stratégies consiste à explorer les plantes utilisées en médecine traditionnelle comme source de nouvelles molécules douées des propriétés antimicrobiennes **[(Omolo *et al*., 2004) ; (Singh, 2012)]**.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 80% de la population mondiale dans les pays en développement, pour des raisons socio-économiques et culturelles, dépendent essentiellement des plantes médicinales pour se soigner et traiter des maladies aussi bien bénignes (rhume, maux d'estomac…) que grave (cancer, paludisme, diabète…) **(Chin *et al*., 2006)**.

Les vertus thérapeutiques de plantes sont dues à leurs métabolites secondaires appelés aussi "composés naturels", ce sont des composés organiques qui contribuent à l'activité biologique de la plante en assurant un rôle défensif contre les prédateurs (herbivores, insectes, micro-organismes) ou protecteurs des tissus végétaux contre les rayonnements ultra-violet nocifs ou attirant des pollinisateurs pour assurer la reproduction de l'espèce **(Treutter, 2005)**.

Les composés naturels sont le plus souvent des molécules de faible poids moléculaire inférieur à 3000 daltons et présentent une diversité structurale considérable, plus de 100 000 substances sont identifiées actuellement [**(Epifano *et al*., 2007) ; (Kinghorn *et al*., 2009)]**.

Les groupes majeurs de composés naturels peuvent être classés en trois grandes classes, les composés phénoliques (tanins, lignine, mélanine, flavonoïdes), les composés azotés (alcaloïdes, bétalaïne, hétérosides cyanogènes et glucosinolates), et les terpènes **(Bruneton, 1999)**. Ils ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : agro-alimentaire (additif alimentaire), cosmétique (parfum…), pesticide...

Par ailleurs, l'effet conservateur des aliments par de nombreuses plantes aromatiques, condimentaires ou épices suggère la présence d'antioxydants et de constituants antimicrobiens dans leurs tissus **(Hirasa et Takemasa**, **1998)**. Ainsi, un intérêt croissant a été accordé aux antioxydants naturels en vue de leur utilisation dans la conservation des aliments ou comme médicaments, à la place des antioxydants de synthèse qui présentent des effets secondaires indésirables **(Velioglu *et al*., 1998)**.

L'Algérie, par sa position géographique, offre une très grande diversité écosystémique qui se traduit par une diversité floristique, il est aussi l'un des pays méditerranéens dont les populations s'adonnent depuis très longtemps à des pratiques médicales traditionnelles et ont acquis un savoir-faire dans ce domaine par l'emploi des plantes médicinales **(Abdelguerfi et Ramdane, 2003)**.

L'une des voies de valorisation de ce patrimoine consiste à la connaissance et l'identification des ressources naturelles susceptible de fournir des composés possédant des activités biologiques ou pharmacologiques exploitables.

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail. En se basant sur les résultats d'une enquête ethnopharmacologique effectuée auprès de la population de la région de Béchar, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et l'évaluation de quelques activités biologiques des extraits d'une plante nommé *Pituranthos scoparius* appelée localement « Guezzah ».

C’est pourquoi, nous avons entrepris cette étude qui a porté sur :

- Une étude ethnopharmacologique ;
- La mise en évidence des différentes familles chimiques dans les extraits en utilisant des réactifs spécifiques ;
- La détermination de l’activité antioxydante des extraits issus de la plantes par la méthode de DPPH et FRAP ;
- L’évaluation de l’activité antibactérienne et antifongique des extraits de *Pituranthos scoparius* ;
- L’étude de l’activité hémolytique de certains extraits actifs de la plante vis-à-vis des globules rouges humains.

# *Première partie*

# *Synthèse bibliographique*

## 1. Maladies infectieuses

L'infection microbienne est le résultat de l'agression de l'organisme par un germe pathogène (bactéries, champignons levuriformes ou filamenteux, virus et parasites). La maladie infectieuse apparaît quand la virulence du germe dépasse les moyens de défense de l'individu **(Rappuoli, 2004)**. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, 7,6 millions de décès sont survenus chez des enfants de moins de 5 ans en 2010, parmi eux 38% ont été causés par des maladies infectieuses **(OMS, 2012)**. Quant aux adultes, les principaux types d'infections responsables de mortalité sont les infections respiratoires aigües (pneumonie, grippe…), le sida, les maladies diarrhéiques, les méningites, les maladies sexuellement transmissibles, les infections nosocomiales, la tuberculose et le paludisme. Plus de 90 % des maladies infectieuses humaines surviennent dans les pays en développement. Elles touchent particulièrement les enfants, dans les régions les plus déshéritées où l'hygiène générale et individuelle est insuffisante et où la politique de prévention est inexistante ou inadaptée **(McMichael, 2004)**. Par ailleurs, le développement industriel génère aussi dans les pays industrialisés de nouvelles conditions d'émergence infectieuse, comme les infections alimentaires par des agents pathogènes qui proviennent de la chaîne du froid ou de l'industrialisation de la chaîne alimentaire **(McMichael et Butler, 2004)**.

Les principaux agents pathogènes émergents et ré-émergents qui montrent une résistance aux antibiotiques sont indiqués dans le **tableau N°01**.

**Tableau N°01** : Les principaux bactéries et champignons pathogènes émergents et ré-émergents **[(Kariuki et Hart, 2001) ; (Lima-Filho et de Aguiar Cordeiro, 2014)]**.

| **Micro-organismes** | **Maladies provoquées** |
|---|---|
| *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (MRSA) et *Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine (VRSA) | Infections de la peau, pneumonie. |
| *Streptococcus pneumoniae* résistant à la pénicilline et aux macrolides | Pneumonie, bactériémie, otite moyenne, méningite, sinusite. |
| *Enterococcus faecalis* résistant à la vancomycine | Infections des voies urinaires, endocardite, bactériémie, méningite. |
| *Neisseria meningitidis* résistant à la pénicilline | Méningite à méningocoques. |
| *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, et les autres Entérobactéries. | Infections nosocomiales (pneumonie, bactériémie…) et infections acquises en communauté (infections de la peau et infections des voies urinaires). |
| *Pseudomonas aeruginosa* multirésistante | Infections nosocomiales (pneumonie, infections des voies urinaires et bactériémie). |
| *Acinetobacter baumannii* multirésistante | Bactériémie, pneumonie, méningite. |
| *Candida albicans* et les espèces *Candida* non- *albicans* (C. *tropicalis*, C. *krusei*) | Mycoses cutanéo-muqueuses et invasives. |
| *Cryptococcus neoformans* | Méningite. |
| *Aspergillus fumigatus* | Pneumonie, méningite. |

### 1.1. Traitement des maladies infectieuses

La prise en charge et la prévention des maladies infectieuses se réalise essentiellement par l'usage de médicaments (chimiothérapie), l'utilisation des vaccins (immunisation) et des mesures d'assainissement de l'environnement (meilleures conditions d'hygiène, de nutrition…**) (Walsh, 2003)**.

#### 1.1.1. Traitement des infections bactériennes : les antibiotiques

Les antibiotiques sont des molécules d'origine naturelle, semi-synthétique ou synthétique, qui sont soit bactériostatiques ou bactéricides. Certains antibiotiques peuvent être bactériostatiques dans certaines circonstances et concentrations, et bactéricides dans d'autres **(Walsh, 2003)**.

Les antibiotiques sont groupés en cinq classes en rapport avec leurs cibles d'action dans les bactéries :

- **La synthèse de la paroi bactérienne** (β lactamines) : cette classe d'antibiotique agit sur la synthèse du peptidoglycane, en se fixant sur les protéines membranaires, aussi appelées Protéines de Liaison aux Pénicillines (PLP). L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi **(Le Minor et Veron, 1989)**.
- **La membrane cellulaire** (polymyxines) : les antibiotiques de cette classe agissent soit comme des détergents qui désorganisent les lipides, soit en formant des pores dans la membrane qui va permettre la fuite des composés cellulaires **(Cattoir, 2006)**.
- **La synthèse des protéines par les bactéries** (les aminoglycosides) : les aminoglycosides se lient de manière irréversible au ribosome 30S et bloquent le complexe d'initiation 30S (30S-mRNA-tRNA), de manière à ce qu'aucune initiation n'ait plus lieu. Les aminoglycosides ralentissent également la synthèse des protéines qui ont déjà initiée leur traduction et induisent une mauvaise lecture de l'ARNm **(Yala *et al.*, 2001)**.
- **La synthèse de l'ADN ou de l'ARN bactérien** (quinolones pour l'ADN et rifampicine pour l'ARN) : les quinolones inhibent sélectivement la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur deux enzymes impliqués dans cette synthèse : l'ADN gyrase et l'ADN topo-isomérase IV **[(Le Minor et Veron, 1989) ; (Bryskier, 1999)]**.
- **La synthèse des folates** (sulfamides) : cette classe comprend la combinaison de sulfaméthoxazole et de triméthoprime. Chacune des molécules bloque une étape de la synthèse des folates ; le sulfaméthoxazole bloque la dihydroptéroate synthétase, tandis que

le triméthoprime inhibe la dihydrofolate reductase (DHFR), enzyme clé fournissant les thymidylates pour la biosynthèse de l'ADN **(Adam et Drouillard, 2003)**.

### 1.1.2. Traitement des infections fongiques : les antifongiques

Les infections fongiques invasives ont un impact majeur sur la mortalité et la morbidité, ainsi que sur la durée et le coût d'hospitalisation, parmi les patients dont le système immunitaire est diminué notamment par des maladies immunosuppressives (sida, chimiothérapie anticancéreuse…) ou des interventions chirurgicales lourdes (greffe d'organes) **[(Blignaut *et al*., 2002) ; (Kibbler *et al*., 2003) ; (Arendrup *et al*., 2011)]**.

Les levures du genre *Candida* font partie du microbiote intestinal, vaginal, et du tube digestif chez l'être humain **(Shao *et al.,* 2007)**. Elles sont à l'origine de nombreuses pathologies d'affections de type muco-dermique aux plus invasives, notamment chez les sujets immunodéprimés et les sujets hospitalisés **(Espinel-Ingroff, 2009)**. Leur pathogénicité est due à un certains facteurs de virulence, résistance aux antifongiques, capacité d'envahir la défense de l'hôte et la formation de biofilms **(Martinez et Fries, 2010)**.

Il existe plus de 150 espèces de *Candida*. Cependant, *Candida albicans* est responsable d'environ 50 % des candidoses profondes devant *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* et *Candida krusei*. La proportion des espèces non-*albicans* varie en fonction des pathologies à risque, de l'âge des patients et des zones géographiques **[(Gigou-Cornet, 2006) ; (Seghir *et al*., 2014)]**.

Au cours de ces dernières années, l'épidémiologie de ces infections causées essentiellement par les levures du genre *Candida*, a connu une augmentation importante. Ce genre occupe le quatrième rang des agents infectieux responsables de septicémies nosocomiales en termes de fréquences, et le premier en termes de mortalité **(Viscoli *et al*., 1999)**.

Les agents antifongiques utilisés pour le traitement des mycoses agissent principalement selon quatre mécanismes d'action différents **(tableau N°02)**.

**Tableau N°02** : Molécules antifongiques utilisées pour le traitement des mycoses systémiques.

| Classes | Composés antifongiques | Mode d'action |
|---|---|---|
| Les antifongiques polyèniques | AmphotéricineB (Fungizone®) | Altère le fonctionnement de la membrane cellulaire. Son caractère amphotère lui permet de s'associer à la bicouche lipidique de la membrane fongique en formant des pores **(Lemke *et al*., 2005)** |
| Les dérivés azolés | Fluconazole (Triflucan®)<br>Itraconazole (Sporanox®)<br>Voriconazole (Vfend®) | Inhibent la synthèse de l'ergostérol nécessaire à la formation de la membrane de la cellule fongique **(Garo, 2004)** |
| Analogues nucléosidiques | 5-fluoro-cytosine (Ancotil®) | Inhibent la synthèse de l'ADN et de l'ARN **(Calop *et al*., 2008)** |
| Les échinocandines | Caspofungine (Cancidas®) | Inhibent la synthèse des glucanes de la paroi cellulaire **(McTaggart et Wong, 2002)** |

### 1.2. Résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance bactérienne aux antibiotiques est un problème majeur de santé publique dans le monde, avec un impact défavorable sur la mortalité des patients **(Cosgrove, 2006)**. Les causes de l'émergence et de la dissémination de la résistance bactérienne sont multiples ; toutefois, l'utilisation excessive ou inappropriée des antibiotiques est le déterminant essentiel **(Harbarth et Samore, 2005)**.

Les bactéries ont développé, tant sur le plan biochimique que génétique de nombreux mécanismes de résistance. Cette dernière est codée par les micro-organismes au niveau chromosomique ou plasmidique. La plupart des bactéries résistantes aux antimicrobiens, contiennent des gènes de résistance situés sur les plasmides R, plutôt que sur des chromosomes **(Perry *et al*., 2004)**. L'utilisation des antibiotiques à large spectre, pendant de longue période est aussi un facteur de risque pour la propagation des résistances **(Yagupsky, 2006)**. Il existe deux types de résistance bactérienne ; la résistance naturelle et la résistance acquise.

#### 1.2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle à un antibiotique est un caractère présent chez toutes les souches de la même espèce **(Courvalin et Cuot, 2001)**. Des particularités structurales de la paroi cellulaire, empêchant les antibiotiques d'accéder à leurs cibles, ou l'absence de cible sont autant de facteurs qui conditionnent la résistance naturelle. Les bacilles à Gram négatif sont naturellement résistants aux antibiotiques hydrophobes **(Normark et Normark, 2002)**.

#### 1.2.2. Résistance acquise

La résistance acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparait au niveau des souches d'une espèce normalement sensibles à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme par des mécanismes d'échanges génétiques. La plupart des résistances acquises sont portées par les plasmides R **[(Davies, 1994) ; (Walsh, 2003)]**.

Les principaux modes d'acquisition de la résistance aux antibiotiques sont :

- **Mutations spontanées** :

Les mutations spontanées ou les mutations dépendantes de croissance, se produisent en raison d'erreurs de réplication ou de réparation incorrecte de l'ADN dans les cellules en division active **(Krašovec et Jerman, 2003)**.

- **Hypermutation**

Au cours des dernières années, des études ont porté sur l'association entre l'hypermutation et la résistance aux antibiotiques. L'utilisation prolongée des antibiotiques bactériostatiques, conduit à l'apparition d'une population bactérienne avec un taux élevé de mutations **[(Denamur *et al.*, 2002) ; (Krašovec et Jerman, 2003)]**. Des études ont montré que l'hypermutation joue un rôle important dans l'évolution de la résistance aux antibiotiques et peut également être responsable du phénotype de multirésistance **[(Martinez et Baquero, 2000) ; (Giraud *et al.*, 2002); (Chopra *et al.*, 2003); (Eliopoulos et Blázquez, 2003) ; (Maciá *et al.*, 2005)]**.

- **Mutations adaptatives**

Des études ont démontré qu'en plus des mutations spontanées, les mutations se produisent dans la non-séparation ou la division lente des cellules en présence d'une pression de sélection non létale **[(Taddei *et al.*, 1997) ; (Bjedov *et al.*, 2003)]**.

- **Transfert horizontal de gènes**

C'est le transfert du matériel génétique entre les bactéries qui provoque la propagation de la résistance aux antibiotiques. Les gènes de résistance, constitués d'une seule ou de multiples mutations peuvent être transférés entre les bactéries par conjugaison, transformation ou transduction, puis sont intégrés dans le chromosome par recombinaison destinataire. Ces gènes peuvent également être associés avec des plasmides et/ou des transposons **[(Rowe-Magnus et Mazel, 1999) ; (Ploy *et al.*, 2000) ; (Dzidic et Bedekovic, 2003) ; (Boucher *et al.*, 2007)]**.

### 1.3. Mécanisme de résistance bactérienne aux antibiotiques

Les mécanismes que les bactéries présentent pour se protéger de l'action des antibiotiques peuvent être classés dans les catégories représentées dans le **tableau N°03,** qui résume les antibiotiques représentatifs et leurs mécanismes de résistance.

**Tableau N° 03** : Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques **(Madigan *et al*., 2007)**.

| **Mécanismes de résistance** | **Exemple d'antibiotiques** | **Origine génétique de la résistance** |
|---|---|---|
| Réduction de la perméabilité | Pénicilline | Chromosomes |
| Inactivation des antibiotiques | Pénicillines<br>Chloramphénicol | Plasmides<br>Chromosomes |
| Modification de la cible | Aminoglycosides<br>Rifamycine<br>Streptomycine | Plasmides<br>Chromosomes |
| Excrétion (pompage vers l'extérieur de la cellule) | Tétracycline<br>Chloramphénicol<br>Erythromycine | Plasmides<br>Chromosomes<br>Chromosomes |
| Développement de résistance des voies métaboliques | Sulfamides | Chromosomes |

### 1.4. Résistance aux antifongiques

L'utilisation fréquente des traitements antifongiques est responsable d'une augmentation de la résistance. L'émergence de la résistance des *Candida sp*. aux antifongiques est à l'origine d'échecs thérapeutiques et pose donc des problèmes de prise en charge de ces infections **(Dannaoui, 2013)**.

Concernant la résistance aux antifongiques, il est également important de distinguer la résistance acquise et la résistance intrinsèque. Une résistance acquise correspond au développement de résistance à un antifongique chez une souche appartenant à une espèce qui est habituellement sensible à cet antifongique. À l'inverse, la résistance intrinsèque ou primaire est une caractéristique de l'espèce (*C. krusei* est toujours résistant au fluconazole).

## 2. Recherche de nouveaux agents anti-infectieux

Depuis leur découverte au 20[eme] siècle, les agents antimicrobiens ont considérablement réduit la menace posée par les maladies infectieuses. Ils sont devenus un instrument efficace de la médecine moderne. Mais l'utilisation exagérée et inappropriée d'antibiotiques sont les principaux facteurs à l'origine du phénomène de résistance.

Par ailleurs, l'utilisation d'antibiotiques dans la production alimentaire a également contribué à l'émergence et la propagation de l'antibiorésistance. En plus des antibiotiques utilisés en médecine humaine, leur utilisation pour le traitement des animaux d'élevage, leur prophylaxie afin de stimuler leur performance augmente la pression sélective à l'émergence et la propagation de souches bactériennes résistantes **(Jalal *et al*., 2012)**.

Les animaux peuvent servir de médiateurs, réservoirs et des diffuseurs de souches bactériennes résistantes. Par conséquent, l'utilisation imprudente des antimicrobiens chez les animaux contribue à la diminution de l'efficacité des antibiotiques utilisés en médecine humaine. Ainsi le transport et la diffusion des agents pathogènes par les populations humaines, augmente l'émergence et la prolifération des germes résistants **(Jalal *et al*., 2012)**.

Le phénomène de la pharmacorésistance est un problème majeur de santé publique à l'échelle mondial, considéré comme un désastre de grande ampleur aussi bien sur le plan médical, économique ou social **(Adhvaryu et Vakharia, 2011)**.

Face à ce problème, la recherche de nouvelles substances antimicrobiennes s'est intensifiée. Elle a adopté plusieurs démarches et voies, telles que le génie génétique **(Sharma *et al*., 2002)**, la génomique des bactériophages **(Farnsworth *et al*., 1985)**, la mutasynthèse **(Afaq *et al*., 2004)** et les moyens classiques de la chimie médicale (chimie combinatoire et criblage à haut débit) **[(Waugh et Long, 2002) ; (Singh, 2012)]**.

L'exploration de nouvelles sources potentielles de molécules actives s'est également développée comme stratégie de lutte contre la pharmacorésistance. Les ressources naturelles telles que les plantes médicinales, organismes marins (algues)… sont susceptibles de fournir de nouvelles molécules efficaces contre les micro-organismes pathogènes et servir de base de développement de nouveaux médicaments.

Parmi toutes les plantes supérieures (angiospermes et gymnospermes) connues sur terre, seulement 6% d'entre elles étaient étudiées pour leurs activités biologiques et 15% sont analysées pour leur composition chimique **[(Verpoorte, 2000) ; (Rates, 2001)]**.

Les chercheurs ont identifié 122 composés naturels issus de 94 espèces de plantes qui sont utilisés couramment comme médicament et faisant aussi partie de la pharmacopée. 80% d'entre eux sont découverts sur la base d'informations ethnopharmacologiques, qui constitue une voie intéressante pour la découverte de nouveaux médicaments. Par ailleurs, leur usage pendant des centaines d'années à travers les âges constitue une preuve supplémentaire de leur innocuité pour l'homme **(Fabricant et Farnsworth, 2001)**.

D'après **Rios et Recio**. **(2005)**, la recherche de nouveaux agents anti-infectieux extrait à partir des plantes, a intéressé de nombreux chercheurs dans le domaine de l'ethnopharmacologie ces dernières décennies. L'examen du nombre d'articles publiés sur l'activité antimicrobienne des plantes médicinales dans la base de données PubMed au cours de la période comprise entre 1966 et 1994, indique que 115 articles ont été trouvés, cependant, durant la période allant de 1995 à 2004 ce chiffre a atteint 307 articles. Ces chiffres témoignent de l'intérêt croissant pour ce type de recherche. Ces travaux se sont focalisés particulièrement sur les huiles essentielles des plantes aromatiques, épices, plantes condimentaires **(Alma *et al*., 2003)**, les autres composés faisant partie du métabolisme secondaire, tels que : les alcaloïdes **(Klausmeyer *et al*., 2004)**, les flavonoïdes **(Sohn *et al*., 2004)**, les sesquiterpènes lactones **(Lin *et al*., 2004)**, les diterpènes **(El-Seedi *et al*., 2002)**, les triterpènes **(Katerere *et al*., 2003)**, les naphtoquinones **(Machado *et al*., 2003)**, entre autres sont également étudiés de plus en plus pour leurs activités antimicrobiennes.

Certaines études se sont intéressées plus particulièrement aux effets de plantes sur des germes pathogènes tels que *Candida albicans* **(Duarte *et al*., 2005)**, *Helicobacter pylori* **(O'Gara *et al*., 2000)**, *Escherichia coli* **(Voravuthikunchai *et al*., 2004)**, *Neisseria gonorrhoeae* **(Shokeen *et al*., 2005),** *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline **(Machado *et al*., 2003)** et *Salmonella typhi* **(Rani et khullar, 2004)**.

Une recherche menée en Novembre 2011dans la base de données PubMed utilisant les mots clés «plante» et «activité antimicrobienne," a produit 18 906 articles scientifiques sur ce thème. Les recherches ont été menées à différents niveaux, le plus souvent des tests préliminaires *in vitro* et des études précliniques sur des animaux de laboratoire. D'autre part,

seul un petit nombre est choisi pour les essais cliniques chez les humains, dont un nombre bien restreint va être commercialisé. En particulier, des demandes de brevet relatif aux médicaments à base de plantes ont augmenté proportionnellement au développement de nouveaux médicaments. Mais le nombre de brevets est encore faible en particulier dans les pays en développement **(Oliveira *et al*., 2011)**.

Dans l'industrie cosmétique et alimentaire, les plantes ayant une activité antimicrobienne peuvent être utilisées comme agents conservateurs ou comme additifs alimentaires. Les travaux d'**Arora et Kaur** en **1999**, sur certains nombres d'épices pour leurs propriétés antimicrobiennes, ont pu montrer que l'ail et le girofle sont efficaces vis-à-vis de certaines bactéries résistantes aux antibiotiques classiques.

La recherche de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes a donné naissance à de nombreuses méthodes d'étude, ce qui pose toutefois le problème de comparaison et de confrontation des résultats d'où la nécessité d'être standardisée.
Bien que les tests antimicrobiens pour les produits naturels n'aient pas été normalisés par les organismes de réglementation, il est recommandé toutefois de suivre les lignes directrices déjà approuvées par les comités internationaux, tels que l'Institut des Standards Cliniques et des Laboratoires (CLSI) ou le Comité Européen des Tests de Sensibilité Antimicrobienne (EUCAST).

### 2.1. Mode d'action de molécules bioactives

Les plantes ont développé plusieurs stratégies pour contrôler les infections bactériennes, il s'agit essentiellement de :

- L'inhibition de la pompe à efflux pour les bactéries multi-résistantes,
- L'inhibition des β- lactamase,
- Les approches synergiques telles que la synergie entre les antibiotiques et les molécules bioactives,
- Le ciblage de virulence et la pathogénicité des bactéries et l'utilisation d'inhibiteurs du quorum sensing,
- L'utilisation de composés anti-plasmide R, pour lutter contre la résistance aux médicaments plasmidiques,
- L'inhibition du mécanisme de transfert de gène.

L'activité des agents antibactériens peut être potentialisée lorsqu'ils agissent en synergie avec d'autres molécules. La preuve est fournie par les interactions établies entre deux composés produits par les plantes *Berberis sp* : la berbérine et la 5'-méthoxyhydnocarpine (5'-MHC).

La berbérine est un alcaloïde ayant pour cible cellulaire l'ADN **(Amin *et al*., 1969)**. Ce cation hydrophobe est aussi un substrat des pompes à efflux exprimées à la surface membranaire. Le rejet de la berbérine hors de la cellule, limite son accumulation intracellulaire et l'empêche d'accéder à sa cible, ce qui diminue son activité antibactérienne. Pour compenser cette faible activité, les plantes *Berberis sp.* synthétisent une flavonoligane, la 5'-MHC, qui bloque les pompes à efflux et améliore les effets de la berbérine **(Stermitz *et al*., 2000)**.

La production de substances capables d'interférer avec la voie du quorum sensing semble être une autre stratégie employée par les plantes pour lutter contre les infections causées par les bactéries à Gram négatif. Des études ont démontré que les plantes *Pisum sativum* **[(Teplitski *et al*., 2000) ; (Bauer et Mathesius, 2004)]** et *Medicago truncatula* **(Gao *et al*., 2003)** synthétisent des analogues des AHLs (analogues des N-acylhomosérine-lactones), molécules impliquées dans la régulation du quorum sensing de ces bactéries. Ces composés, perturbent la communication intercellulaire, en activant ou en inhibant certaines voies de la régulation du quorum sensing **(Bauer et Mathesius, 2004)**.

## 3. Taxonomie et distribution de la famille des Apiacées

Les Apiacées (Apiaceae) anciennement appelées Ombéllifères, comprennent plus de 3000 espèces réparties dans près de 450 genres. C'est une famille cosmopolite, très commune en montagne mais toutefois assez rare dans les régions tropicales. C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées. Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres **(Ozenda, 1991)**.

Les plantes de la famille des Apiacées sont essentiellement des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou le plus souvent vivaces, plus rarement des arbustes.

### 3.1. Classification de la famille des Apiacées

Les plantes de la famille des Apiacées appartiennent à l'embranchement des Spermatophytes ou Phanérogames car ce sont des plantes à graines. Les Spermatophytes sont classés en deux catégories :

- les Gymnospermes : sont des plantes à ovules nus

- les Angiospermes : qui par évolution ont des ovules protégés par des ovaires. Parmi les Angiospermes, on distingue les Monocots et par évolution les Eudicots suivant la structure de l'embryon contenu dans la graine **[(Deysson, 1978) ; (Dupont et Guignard, 2007)]**.

La classification *Angiosperms Phylogeny Group* (APG) s'appuie sur des caractères phylogénétiques et permet la classification botanique des Angiospermes.

Pour résumer, on peut situer la famille des Apiacées comme suit :

| | |
|---|---|
| Embranchement | Spermatophytes : plantes à graine |
| Sous embranchement | Angiospermes : plantes à ovaire |
| Eudicots | Embryon à deux cotylédons, évolués |
| Classe | Astéridées : fleurs pentamères gamopétales à carpelles soudés et étamines adnées |
| Sous classe | Euastéridées II : espèces herbacées à ovaire infère et regroupement des fleurs en inflorescence |
| Ordre | Apiales |

### 3.2. Intérêt de la famille des Apiacées

Les Apiacées sont le plus souvent des plantes aromatiques. Elles sécrètent des huiles essentielles qui leurs confèrent des odeurs et des saveurs caractéristiques, ce qui explique leur emploi à la fois comme aliments et condiments, et comme traitement en médecine traditionnelle.

La plupart des Apiacées utilisées comme condiments sont également réputées pour leurs nombreuses propriétés médicinales. Parmi les plus connues, nous pouvons citer l'anis vert (*Pimpinella anisum* L.), relaxant utilisé dans les troubles digestifs **(Tirapelli *et al.*, 2007)**. L'angélique officinale (*Angelica archangelica* L.) hépatoprotectrice **(Yeh *et al.*, 2003)**, ou encore le fenouil commun qui possède en plus de ses propriétés diurétiques et carminatives des activités antioxydantes et anti-inflammatoires **(Choi et Hwang, 2004)**.

D'autres Apiacées, qui ont fait l'objet d'études pour leurs diverses activités biologiques sont focalisés surtout sur l'évaluation des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits bruts et spécifiques des plantes, sont regroupés dans le **tableau N°04**.

**Tableau N°04** : Activités biologiques de quelques plantes médicinales de la famille des Apiacées.

| Plantes | Parties utilisées | Extraits utilisés | Activités biologiques | Doses efficaces | Références |
|---|---|---|---|---|---|
| *Alepidea amatymbica* | Feuilles et rhizomes | brut : aqueux et organiques | Antibactérienne | CMI:0,39-3,13 mg/mL<br>CMI :0,78-12,5 mg/mL | **Mulaudzi *et al.*, 2009** |
| *Ferula hermonis* | Racines et rhizomes | huiles essentielles | Antifongique | CMI : 32-128 µg/mL | **Al-Ja'fari *et al.*, 2011** |
| *Arctopus* species | Racines | brut : hydro-méthanolique | Antibactérienne<br>Antifongique | CMI: 0,02-4 mg/mL<br>CMI: 2-6 mg/mL | **Magee *et al.*, 2007** |
| *Prangos ferulacea* (L.) Lindl | Partie comestible | brut : méthanolique | Antioxydante | $IC_{50}$ : 0,242 mg/mL | **Coruh *et al.*, 2007** |
| *Crithmum maritimum* L | Feuilles | extrait de polyphénoles | Antioxydante | $IC_{50}$ :0,146-1,245 mg/mL | **Meot-Duros et Magné, 2009** |
| *Chaerophyllum libanoticum* | Fruits | huiles essentielles | Antibactérienne<br>Antifongique<br>Antioxydante | CMI: 0,25-0,5 mg/mL<br>CMI:0,5 mg/mL<br>$IC_{50}$ :>30 mg/mL | **Demirci *et al.*, 2007** |

## 3.3. *Pituranthos scoparius*

### 3.3.1. Description botanique de la plante

*Pituranthos scoparius* Benth et Hook, appelée en arabe « Guezzah » est une plante vivace, aphylle ou presque, à tiges souvent très ramifiées. Ses tiges décombantes, longues de 40-80 cm, florifères avec des fleurs blanches à ombelles latérales et pédoncule court (1-3 cm). Ses fruits sont plus longs que larges, hérissés de poils dressés. C'est une plante à souche ligneuse ramifiée émettant de nombreuses rosettes de feuilles triséquées 1-2 fois. La floraison a lieu de Février à Octobre **(Quézel et Santa, 1963) (Figure N°01)**.



**Figure N°01** : *Pituranthos scoparius* de la région de récolte (Kenadsa).

### 3.3.2. Classification botanique

D'après, **Quézel et Santa (1963)**, "*Pituranthos scoparius*" est classée comme suit :

Règne : Végétal
Embranchement : Spermaphytes
Sous-embranchement : Angiosperme
Classe : Eudicotylédonnes
Ordre : Apiales
Famille : Apiacées
Genre : *Pituranthos*
Espèce : *Pituranthos scoparius*

### 3.3.3. Origine et répartition géographique

*Pituranthos scoparius* est une espèce endémique qui se trouve en Afrique du Nord, donnée pour rare au Sahara central, elle est fréquente dans les Hauts plateaux du Tassili n'Ajjer, l'Atlas saharien et Sahara septentrional **(Ozanda, 1991)**.

### 3.3.4. Usage en médecine traditionnelle

En médecine traditionnelle les tiges et les feuilles de *Pituranthos scoparius* sont utilisés pour le traitement de la rougeole, l'asthme, l'ictère, les troubles digestifs et les soins post-partum : spasmes et douleurs. Le décocté et l'infusion des feuilles et les fleurs sont utilisés dans le traitement d'hépatite, diabète, l'indigestion, maux d'estomac et bas ventre, ainsi que pour les infections urinaires. Elle est utilisée aussi contre les morsures des vipères et les piqûres des scorpions. Certains recommandent l'application locale de la poudre des feuilles en cataplasme, pour soulager les douleurs rhumatismales **[(Didi et Zabeirou, 2003) ; (Hammiche et Maiza, 2006) ; (Boudjelal *et al*., 2013)]**.

### 3.3.5. Travaux préalables réalisés sur *Pituranthos scoparius*

Les travaux antérieurs ont étudié la composition chimique des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* et ont montré sa richesse en α-pinène, limonène, sabinène, dill-apiole et β-pinène **[(Vérité *et al.*, 2004) ; (Hammiche et Maiza, 2006) ; (Gourine *et al.*, 2011) ; (Smaili *et al.*, 2011) ; (Takia *et al.*, 2013)]**. En plus de ces composés chimiques **Kalla en 2012**, a détecté quelques nouveaux constituants pour la première fois dans l'huile du *Pituranthos scoparius* notamment: δ- 3-carane, tricyclène, 2-β- pinène, 1-cyclohexyliden -2-methylpropenem, α-pyronene, 3,7-Guaiadiene, 8-methoxy-1,2,3,4 -tetrahydro-1-isopropylnaphtalene, butylidene phtalide, 3-methyl-7-methoxy-2-benzopyran-1(1H)-one , Butylidene dihydro-phtalide.

En 2004, l'étude de **Hamada et ses collaborateurs,** a permis l'isolement de deux isocoumarines à partir de l'extrait acétate d'éthyle des racines de *Pituranthos scoparius* de la région de Biskra : 3-n-propyl-5-methoxy-6-hydroxy-isocoumarine et 3-n-propyl-5,7 dimethoxy-6-hydroxy-isocoumarine.

Les travaux de **Boutaghane *et al.* (2004)** ont montré que les huiles essentielles de cette plante présentent une activité antibactérienne vis-à-vis des souches pathogènes de référence dont *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec une CMI de 1 mg/mL et *Proteus mirabilis* avec une CMI de 2 mg/mL.

De même les travaux de **Benmekhbi *et al.* (2008)** ont montré que l'extrait butanolique de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* a une forte activité antibactérienne vis-à-vis des souches pathogènes telle qu'*Escherichia coli* ATCC25922 avec une CMI de 0,03 µg/mL et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec une CMI de 0,125 µg/mL.

# *Deuxième partie*

# *Matériel et méthodes*

# 1. Matériel biologique

## 1.1. Matériel végétal

### 1.1.1. Récolte de la plante

La récolte de la plante entière *Pituranthos scoparius* Benth et Hook était faite dans la région de Béchar, durant le mois de Septembre 2012. Le matériel végétal récolté, partie aérienne (tiges, fleurs) et racines, est ensuite séché à l'abri de l'humidité et de la lumière puis conservé hermétiquement dans un endroit sec.

### 1.1.2. Identification de la plante

L'identification taxonomique de la plante a été faite en collaboration avec le laboratoire d'Écologie et Gestion des Écosystèmes Naturels de l'Université Aboubekr Belkaïd, Tlemcen (Algérie).

## 1.2. Micro-organismes

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de "*Pituranthos scoparius*" a été réalisée sur des bactéries (Gram positif et Gram négatif), levures et champignons filamenteux de références comme indiqué dans le **tableau N°05**. Elles sont fournies par les laboratoires de recherche : Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique (LapSab), et Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) Université de Tlemcen.

**Tableau N°05 :** Micro-organismes utilisés pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

| | |
|---|---|
| **Bactéries à Gram Positif** | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 |
| | *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (MRSA) ATCC 43300 |
| | *Bacillus cereus* ATCC11778 |
| | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 |
| | *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 |
| | *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 |
| **Bactéries à Gram Négatif** | *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 |
| | *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606 |
| | *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 |
| | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 |
| | *Proteus mirabilis* ATCC 35659 |
| | *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 |
| | *Escherichia coli* ATCC 25933 |
| | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 |
| **Levures** | *Candida albicans* ATCC 10231 |
| | *Candida albicans* ATCC 26790 |
| | *Candida albicans* IP 444 |
| **Moisissures** | *Aspergillus flavus* MNHN 994294 |
| | *Fusarium oxysporum* MNHN 963917 |

### 1.3. Globules rouges humains

Pour les tests de cytotoxicité, nous avons utilisé un modèle universel de cellules animales, le globule rouge humain provenant d'un donneur unique sain.

## 2. Méthodes

### 2.1. Étude ethnopharmacologique

Une enquête ethnopharmacologique portant sur la plante *Pituranthos scoparius* et son usage médicinal a été menée auprès de la population de la ville de Béchar et deux localités environnantes (Kenadsa et Abadla).

Le questionnaire a été basé sur une fiche d'enquête afin de recueillir les données relatives à l'informateur, les pratiquants de la phytothérapie et les maladies traitées. Les questions posées sont de type semi-fermé et visant directement les utilisations et les effets pharmacologiques.

#### 2.1.1. Description de la zone d'étude

L'étude ethnopharmacologique est effectuée au niveau de la wilaya de Béchar située dans le Sud-Ouest Algérien, qui s'étend sur une superficie de 164 881 Km² sa population est estimée à 279 851 habitants.

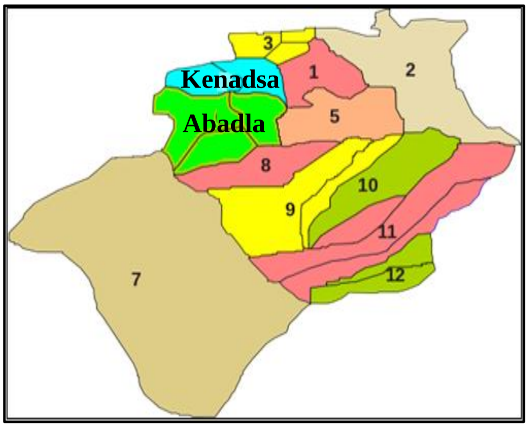





**Figure N°02** : Situation géographique de la wilaya de Béchar.

### 2.1.2. Méthode d'étude

L'enquête ethnopharmacologique est effectuée auprès de 200 personnes dont 25 tradipraticiens : 23 herboristes appelé localement Âattar, 2 sages-femmes et 175 individus de la population locale rencontrés d'une manière aléatoire chez des herboristes et au niveau des marchés « souk» des régions étudiées.

Ce sont des hommes et des femmes âgés de 27 à plus de 80 ans, qui détiennent énormément de connaissances sur les pratiques médicinales traditionnelles reçues et transmises de pères en fils.

La fiche d'enquête **(Figure N°03)** a été élaborée afin d'obtenir les informations sur l'espèce, la période de récolte, les parties utilisées, le mode de préparation, le mode d'administration et les maladies traitées. Les informations sur l'efficacité et les effets secondaires sont également notées. En outre, nous avons reproduit le plus scrupuleusement possible les paroles des informateurs, sans chercher à les interpréter.

**<u>1-Identification</u>**

**N°** :………….

**Nom et Prénom** :……………………………….

**Sexe :**………… **Âge** :………….

**Ville :** …………………… ………………………

**Niveau scolaire :** …………………….

**<u>2- Information sur la plante</u>**

**Connaissez- vous la plante *Pituranthos scoparius* (Guezzah) ?**

Oui Non

Si oui ;

**Vous la trouvez où?**

Lieu de récolte :…………………………………………………………………….

Chez l'herboriste : ……………………………

**Indications (maladies traitées**):

...……………………………………………………………………………

………………………………………………………………………………

**La partie utilisée :**……………………………………………………………………….

**Mode d'emploi :** ……………………………………………………

……………………………………………………………………………………

**3. <u>Efficacité et toxicité</u>**

**Est-ce que vous trouvez que cette plante est efficace ?**

Oui Non

**Est-ce que vous trouvez que cette plante est toxique ?**

Oui Non

**Si oui quel type de toxicité** : …………………………………………………………

**Figure N°03** : Questionnaire.

## 2.2. Étude phytochimique

### 2.2.1. Préparation des extraits

#### a. Préparation des extraits bruts

Nous avons utilisé deux méthodes d'extraction, la macération pendant 24 heures à température ambiante et l'extraction sous reflux pendant 3 heures à 70°C.

La partie aérienne (tiges, fleurs) et souterraine (racines) de la plante, sont séchées, broyées et mises en contact avec différents solvants de différentes polarités dont le chloroforme, l'eau, le méthanol/eau et l'acétone/eau (70:30) (v/v). Après filtration, les extraits organiques sont évaporés sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif pour l'élimination de solvant, puis sont mis dans des flacons hermétiquement fermés, et conservés à 4°C à l'abri de la lumière jusqu'au moment de leurs utilisations.

#### b. Préparation des extraits spécifiques

- **Préparation d'extrait enrichi des flavonoïdes**

La matière végétale sèche (partie aérienne ou racines), est broyée et mise en contact avec un mélange méthanol/eau (80:20) (v/v) et laissée macérer pendant 72 heures à température ambiante. Après filtration, le filtrat est concentré en éliminant le méthanol à l'aide d'un évaporateur rotatif. Nous avons procédé ensuite à une extraction liquide/liquide utilisant successivement l'hexane (élimination de graisses, cires, chlorophylle…), l'acétate d'éthyle qui est utilisé pour l'extraction des flavonoïdes aglycones ou flavonoïdes mono O- glycosides et le n-butanol utilisé pour l'extraction des flavonoïdes di-O-glycosides et tri-glycosides et C-glycosides **(Tereschuk *et al.*, 2004**), comme indiqué dans la **Figure N°04**.

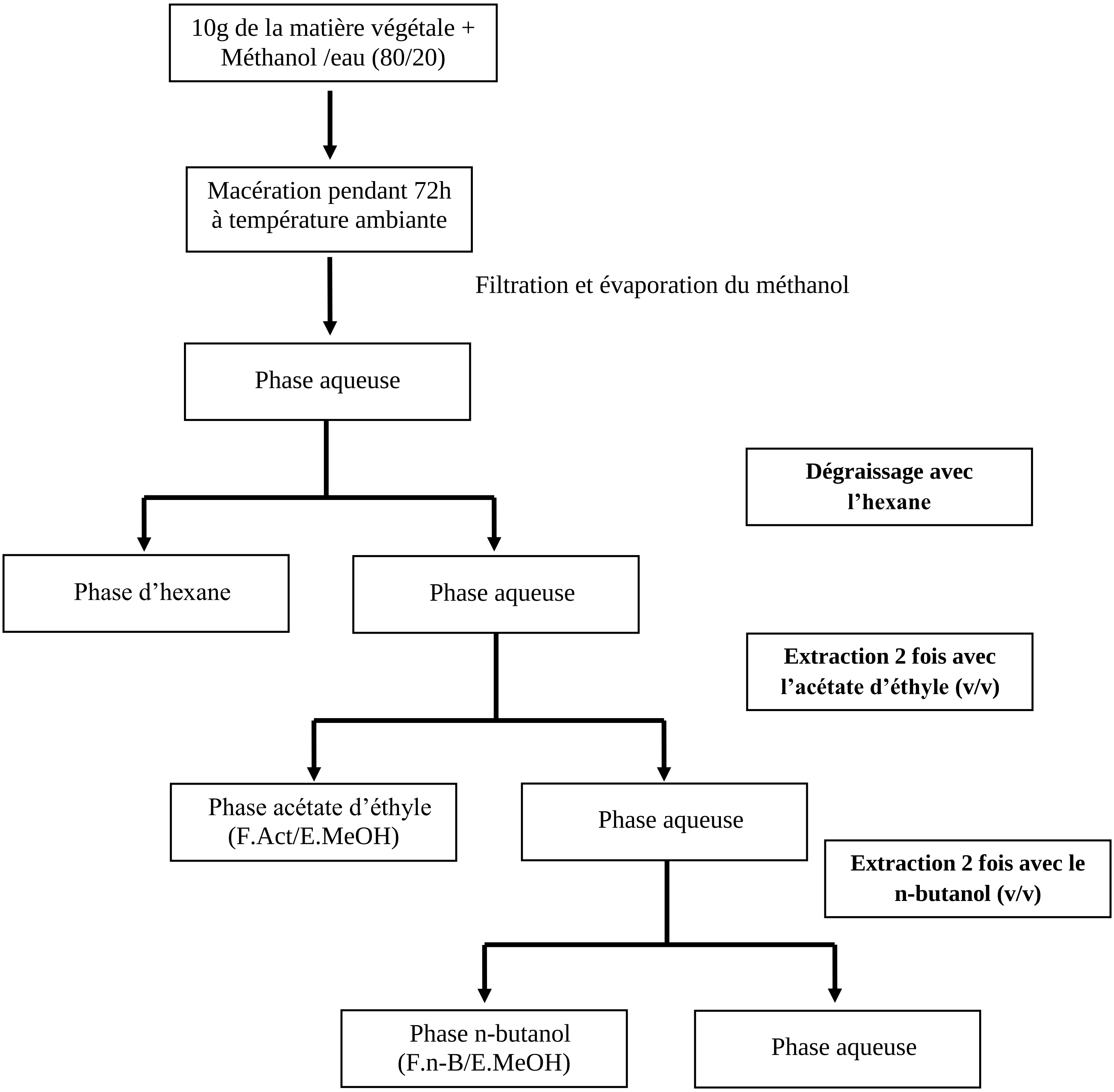



**Figure N°04 : Protocole de préparation d'extrait enrichi des flavonoïdes (Tereschuk *et al.*, 2004).**

- **Préparation d'extrait enrichi des tanins**

La matière végétale (partie aérienne ou racines), séchée et broyée est mise en contact avec un mélange acétone/eau (70:30) (v/v) et laissée macérer pendant 72 heures à température ambiante. Après évaporation de l'acétone nous avons procédé à une extraction liquide/liquide utilisant successivement l'hexane (élimination de graisses, cires), l'acétate d'éthyle et le n-butanol **(Bruneton, 1999) (Figure N°05)**.

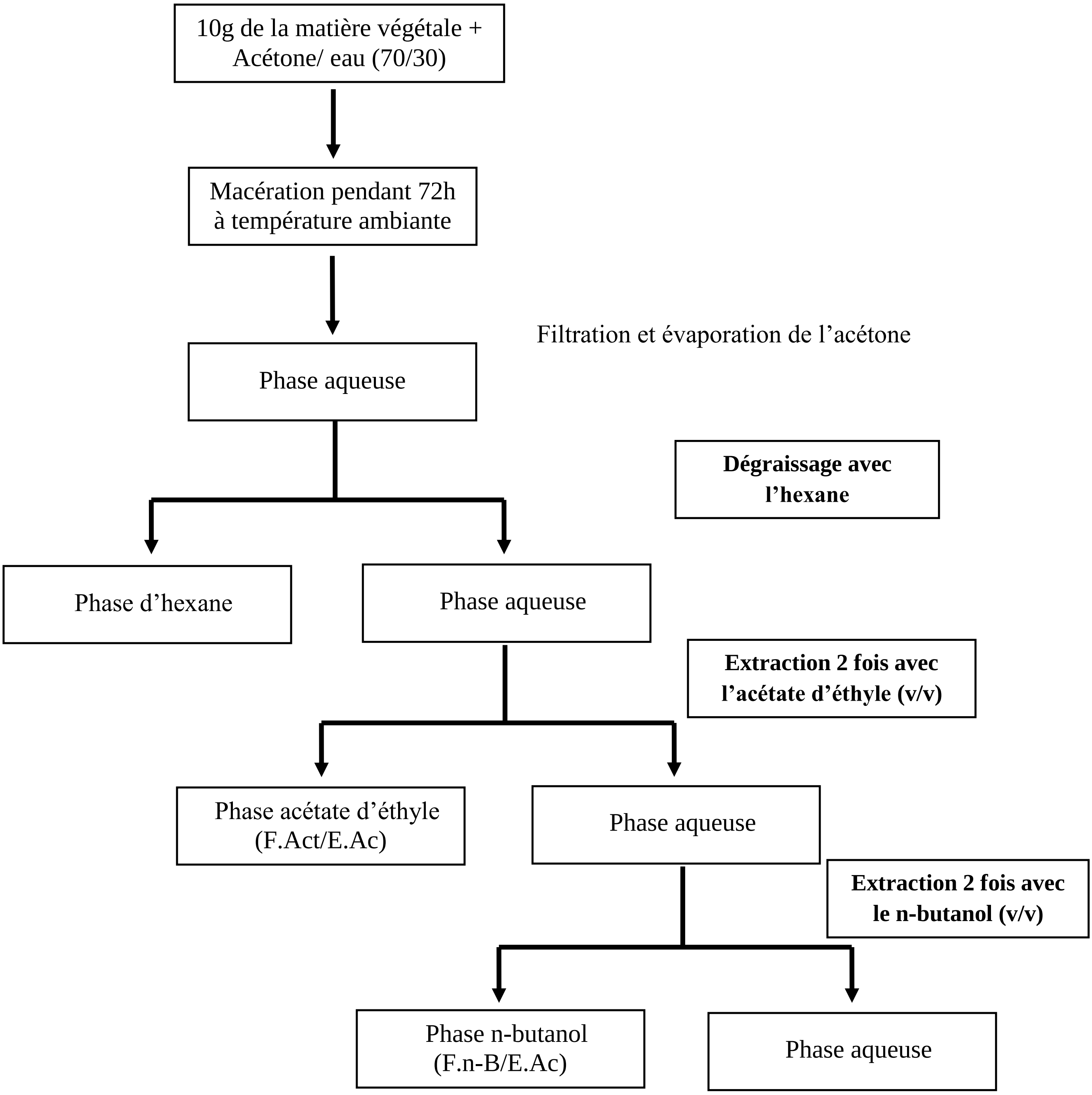



**Figure N°05 : Protocole de préparation d'extrait enrichi des tanins (Bruneton, 1999)**.

### 2.2.2. Calcul du rendement

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait évaporé du solvant et la masse de la matière végétale initiale ayant servi pour l'extraction.

Exprimé en pourcentage, le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement }(\%) = \frac{M_0}{M_1} \times 100$$

$M_0$ : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé.

$M_1$ : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.

### 2.2.3. Tests phytochimiques

Afin de mettre en évidence, la présence ou l'absence de certains composés appartenant aux familles chimiques des métabolites secondaires. Nous avons réalisé des tests phytochimiques spécifiques basés sur des réactions de coloration et de précipitation. Par ailleurs, la propriété d'absorption de radiations ultra-violettes est également utilisée pour détecter, ou caractériser certains composés à une longueur d'onde de 366 nm **[(Bruneton, 1999) ; (Karumi *et al.*, 2004) ; (Oloyede, 2005) ; (Kablan *et al.*, 2008)]**.

- **Tanins**

La présence des tanins est mise en évidence par l'ajout de deux à trois gouttes de chlorure de fer ($FeCl_3$ à1%) à 2 mL d'extrait. Leur présence est indiquée par l'apparition d'une coloration verdâtre (pour les tanins catéchiques) ou bleu-noir (pour les tanins galliques).

- **Flavonoïdes**

La détection des flavonoïdes est réalisée par l'ajout à 1mL d'extrait, 1 mL d'acide chlorhydrique concentré et trois copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rouge, orange ou rose indique leur présence.

- **Quinones libres**

La recherche des quinones est effectuée par l'addition de quelques gouttes de NaOH (1%) à 5mL d'extrait. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violette révèle la présence des quinones libres.

- **Coumarines**

5 mL de l'extrait est évaporé à sec, puis le résidu est dissout dans l'eau chaude (2 mL). La solution obtenue est divisée en deux volumes égaux, le premier représente un témoin ; le deuxième est traité avec 0,5 mL d'hydroxyde d'ammonium ($NH_4OH$) à 10 %. L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence des coumarines.

- **Anthraquinones**

Ajouter 5 mL de l'hydroxyde d'ammonium $NH_4OH$ (10%) à 10 mL d'extrait. L'apparition d'une coloration violette indique leur présence.

- **Alcaloïdes**

Ajouter 5 mL d'acide chlorhydrique (1%) à 1 mL de chaque extrait, le mélange est incubé au bain marie pendant 10 minutes, puis nous divisons la solution obtenue en deux parties. Nous ajoutons dans un tube le réactif de Mayer et dans l'autre le réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes.

- **Terpénoïdes (Test de Libermann-Burchard)**

À 5 mL d'extrait, nous ajoutons deux gouttes d'anhydride acétique et une goutte d'acide sulfurique. L'apparition d'une couleur mauve ou violette indique un test positif.

- **Stérol et triterpenes**

À 5 mL d'extrait nous ajoutons 2 mL de chloroforme et 3 mL d'acide sulfurique concentré (95-97%). La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique un test positif.

- **Saponosides**

Dans un tube à essai, 10 mL d'extrait sont agités pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 minutes. Une hauteur de mousse persistante, supérieur à 1 cm indique la présence des saponosides.

- **Composés réducteurs**

La présence des composés réducteurs est mise en évidence par l'addition de 2 mL de solution Fehling à 1 mL d'extrait, puis les tubes sont incubés au bain marie. Un test positif est indiqué par l'apparition d'une couleur rouge brique.

### 2.2.4. Dosage de polyphénols

La méthode utilisée est celle utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en formant un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleue qui absorbe à 725 nm **(Bonnaillie *et al*., 2012)**.

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par **Vermerris et Nicholson (2007)**. 100 µL de chaque extrait sont mélangés avec 2 mL d'une solution de carbonate de sodium à 2 % fraîchement préparée ; après agitation et incubation pendant 5 minutes, 100 µL du réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont ajoutés et l'ensemble est incubé 30 minutes à température ambiante. La lecture des densités optiques est effectuée contre un blanc à une longueur d'onde de 725nm.

Une gamme étalon est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à des concentrations allant de 0,1 à 1,2 mg/mL.

La concentration des polyphénols est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EqAG/g) est calculée selon la formule suivante :

$$[\text{Polyphénols}] = a\,.f\,/C$$

a : concentration des polyphénols (mg/mL) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : facteur de dilution (x 22).

C : concentration initial de l'extrait (1 mg/mL).

### 2.2.5. Dosage de flavonoïdes totaux

La détermination du taux de flavonoïdes totaux est estimée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et la soude (NaOH). Le trichlorure d'aluminium, utilisé comme agent chromogène, forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude qui absorbe dans le visible à 510 nm **(Mekkiou, 2005)**.

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode colorimétrique décrite par **Ardestani et Yazdanparast (2007)**.

500 µL de chaque extrait sont mélangés avec 2 mL d'eau distillée et 150 µL d'une solution de nitrite de sodium ($NaNO_2$) à 15 %. Après 6 minutes d'incubation, 150 µL de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 10 % sont ajoutés au mélange, 6 minutes après, 2 mL d'hydroxyde de sodium à 4 % sont ajoutés et le volume final est complété immédiatement à 5 mL par l'eau distillée. Après 15 minutes d'incubation, la lecture est faite à 510 nm contre un blanc.

Une gamme étalon est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif à des concentrations allant de 0,1 et 1,2 mg/mL.

La concentration des flavonoïdes totaux est exprimée en milligramme équivalent de catéchine par gramme d'extrait (mg EqCA/g) est calculée selon la formule suivante :

$$[\text{Flavonoïdes}] = a \cdot f / C$$

a : concentration des flavonoïdes (mg/mL) déterminée à partir de la courbe étalon

f : facteur de dilution (x 10)

C : concentration initial de l'extrait (1 mg/mL)

## 2.3. Analyses biologiques

### 2.3.1. Évaluation de l'activité antiradicalaire par la méthode de piégeage du radical libre DPPH

Le radical 2,2 Diphényle-1- Picryl-Hydrazyle (DPPH·) est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse **(Bozin *et al.,* 2008**). C'est pour cette raison que nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH· comme un radical libre, pour étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits. Elle repose sur la réduction du radical DPPH· (forme radicalaire de couleur violette) par un antioxydant (A-OH), qui cède son hydrogène à ce radical pour donner le DPPHH (forme non radicalaire de couleur jaune). La mesure de l'activité antiradicalaire se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm et qui peut s'exprimer par le pourcentage de réduction du DPPH **[(Larrauri *et al*., 1998) ; (Kouamé *et al*., 2009)]**.

Le test de DPPH a été effectué selon le protocole décrit par **Popovici *et al*. (2009)**. Nous avons commencé par la préparation de la solution du DPPH à une concentration de 0,025 mg/mL dans le méthanol. Un volume de 50 µL de différentes concentrations de chaque extrait allant de 25 à 250 µg/mL est ajouté à 1950 µL de la solution du DPPH. Le contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µL de méthanol avec 1950 µL de DPPH. Après incubation à température ambiante à l'obscurité pendant 30 minutes, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 517 nm, contre un blanc pour chaque concentration qui contient 50 µL de l'extrait et 1950 µL de méthanol. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif avec des concentrations allant de 0,25 à 7,5 µg/mL.

Le pourcentage de piégeage du radical est calculé selon l'équation suivante :

%de réduction de DPPH = [(Abs contrôle–Abs échantillon) / Abs contrôle] x 100

- **Calcul des concentrations inhibitrices à 50% ($IC_{50}$)**

À partir des pourcentages d'inhibition, nous pouvons déterminer les valeurs d'$IC_{50}$ (concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH•) de chaque extrait à l'aide d'un logiciel statistique, Origine 50 **(Scherer et Godoy, 2009)**.

### 2.3.2. Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ($Fe^{3+}$) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux ($Fe^{2+}$). L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm **(Karagözler *et al*., 2008)**. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés **(Hubert, 2006)**.

Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode de **Karagözler *et al.* (2008)**. 1 mL de l'extrait à différentes concentrations (allant de 1 à 6 mg/mL) diluées dans l'eau distillée est mélangé avec 2,5 mL d'une solution tampon phosphate (0,2 M à pH 6,6) et 2,5 mL de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) à 1%, une incubation à 50°C pendant 20 minutes a été effectuée. Après refroidissement à température ambiante 2,5 mL de l'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés.

Les tubes sont centrifugés à 3000 tours/min pendant 10 minutes. Un volume de 2,5 mL du surnageant de chaque concentration est prélevé auquel nous ajoutons 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL de chlorure de fer ($FeCl_3$) à 0,1%.

La lecture de l'absorbance se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. L'acide ascorbique et le butylhydroxytoluène (BHT) sont utilisés comme contrôles positifs.

### 2.3.3. Évaluation de l'activité antibactérienne

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits de *Pituranthos scoparius*, nous avons utilisé une méthode qualitative (méthode de diffusion sur gélose ou méthode des disques) et une autre quantitative (méthode de microdilution en milieu liquide).

Seuls les extraits ayant montré une activité plus ou moins importante par la méthode des disques ont fait l'objet d'une évaluation quantitative de leur activité par la méthode de microdilution en milieu liquide afin de déterminer les Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides (CMI et CMB).

#### a. Méthode de diffusion sur gélose

Le test de sensibilité a été effectué sur milieu gélosé de Mueller Hinton préparé à pH allant de 7,2 à 7,4 ; selon la méthode de diffusion des disques décrite par le **CLSI**, **M2-A9 (2010)**. C'est une technique qualitative pour l'évaluation de l'activité antibactérienne, basée sur la mesure de diamètre des zones d'inhibition, formées autour du dépôt de l'extrait testé.

L'inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures sur milieu gélosé non sélectif. Quelques colonies d'une culture pure sont suspendues dans de l'eau physiologique à 0,85%. La suspension est ensuite ajustée au standard 0.5 McFarland à l'aide d'un spectrophotomètre à 625 nm. La densité optique doit être comprise entre 0,08 et 0,13 qui correspond approximativement à 1-2 × $10^8$ UFC/mL.

L'ensemencement de l'inoculum se fait par écouvillonnage sur la gélose par des stries serrées tout en tournant la boîte à 60° à trois reprises. Des disques en papier filtre Wattman N°4 de 6 mm de diamètre sont stérilisés par autoclavage, puis imprégnés par 20 µL des extraits à tester (solubilisés dans le DMSO pur). Les disques sont placés aseptiquement sur la gélose préalablement inoculée. Les disques témoins sont imprégnés par 20 µL de DMSO. Après 15 minutes à température ambiante, les boites sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. La lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques (mm). La gentamicine (10 µg/disque) a été utilisée comme antibiotique de référence.

Pour évaluer l'activité antibactérienne de nos extraits, nous avons utilisé les critères de **Lee *et al*. (2007)**, basé sur les diamètres des zones d'inhibition exprimées en mm :

-Diamètre ≤ 6,4 mm → pas d'activité antibactérienne ;

-6,5 ≤ Diamètre ≤ 6,9 mm→ activité antibactérienne faible ;

-7 ≤ Diamètre ≤ 7,9 mm→ activité antibactérienne moyenne ;

- Diamètre ≥ 8 mm→ bonne activité antibactérienne.

**b. Méthode de microdilution en milieu liquide (CLSI, M07-A8, 2010)**

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) des extraits a été faite par la méthode de microdilution en milieu liquide selon les recommandations de CLSI.

Le milieu de culture recommandé pour cette technique est le bouillon Mueller Hinton à un pH allant de 7,2 à 7,4.

En commençant par l'ajustement de la concentration de toutes les bactéries à 0.5 McFarland qui correspond à $10^8$ cellules/mL.

Nous avons utilisé dans ce test des microplaques stériles à 96 puits. Les extraits sont préparés dans le bouillon Mueller Hinton pour obtenir une gamme de concentrations décroissantes allant de 50 à 0,09 mg/mL dans les puits des microplaques (La concentration du DMSO ne dépasse pas 2% dans le premier puits).

Le premier puits de la microplaque est utilisé comme contrôle négatif, rempli que par le milieu de culture. Tandis que le dernier puits représente le contrôle positif qui ne contient que la suspension bactérienne.

180 µL de chaque concentration de chaque extrait sont déposés dans chaque puits, puis 20 µL de l'inoculum sont ajoutés pour avoir une concentration finale de $5.10^4$ cellules/mL. Après 24 heures d'incubation à 37°C, la lecture est effectuée à l'œil nu. La CMI est la plus faible concentration de l'extrait testé pour laquelle aucun trouble visuel n'est observé.

La CMB est définie comme étant la plus faible concentration d'extrait détruisant 99,9% de l'inoculum, sa détermination est confirmée par la technique de spot sur milieu gélosé.

### 2.3.4. Évaluation de l'activité antifongique vis-à-vis des levures

#### a. Méthode de diffusion sur gélose :

La méthode de diffusion sur un milieu solide inspirée d'une technique standardisée par le **NCCLS (M 44-A, 2004)**.

Le milieu de culture utilisé est le Mueller Hinton Agar supplémenté de 2% de glucose et 0,5µg/mL de bleu de méthylène à un pH allant de 7,2 à 7,4.

L'inoculum équivalent à 0.5 McFarland est réalisé dans les mêmes conditions que précédemment sauf que l'absorbance à 530 nm (densité optique comprise entre 0,12 et 0,15) qui correspond à une concentration de 1 à 5 × $10^6$ cellules/mL.

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage. Les disques immergés par les extraits à tester sont déposés dans les boîtes préalablement ensemencées. Après un temps de diffusion de 15 minutes à température ambiante, les boites sont incubées à 35°C pendant 24 heures. La lecture est réalisée par mesure des diamètres des zones d'inhibition. L'amphotéricine B à une concentration de 10 µg/disque est utilisé comme antifongique de référence et le DMSO pur comme contrôle négatif.

#### b. Méthode de microdilution en milieu liquide (CLSI, M27-A3, 2008)

Le milieu de culture recommandé pour cette méthode est le Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640) avec glutamine, sans bicarbonate ; tamponné à pH 7 par l'acide morpholine propane sulfonic (MOPS) à une concentration finale de 0,165 mol/L.
100 µL de milieu de culture RPMI 1640 sont déposés dans les 96 puits d'une microplaque stérile. 100 µL de la solution mère de chaque extrait à tester sont déposés dans le deuxième puits de chaque colonne. Des dilutions de ½ sont réalisées par le transfert de 100 µL d'un puits à l'autre à partir du deuxième. Les concentrations finales des extraits sont comprises entre 50 et 0,09 mg/mL. Puis, 100 µL de l'inoculum à $10^3$ cellules/mL sont ajoutés dans chaque puits pour avoir une concentration finale de l'inoculum de 0,5x$10^3$ cellules/mL. Après 24 heures d'incubation à 35°C, les CMI sont déterminées à l'œil nu.

### 2.3.5. Évaluation de l'activité antifongique vis-à-vis des moisissures

L'activité antifongique des extraits est évaluée selon la technique d'empoisonnement de la nourriture **(Soliman et Badeaa, 2002)**.

Les solutions mères des extraits à tester sont préparées de telle façon à avoir des concentrations finales égales à 1 mg/mL. Un volume de 1 mL de l'extrait à tester est bien mélangé avec 19 mL du milieu de culture Sabouraud Agar. Le témoin négatif est préparé de la même façon par l'ajout du DMSO. Les disques mycéliens pris aseptiquement à partir d'une préculture des moisissures sont inoculés dans le centre de la boite de pétri. La boite contrôle est préparée d'une manière similaire par l'addition de 1 mL d'eau distillée et cultivée dans les mêmes conditions sur le milieu Sabouraud Agar. Les boites sont incubées à 27 °C. La lecture est réalisée à partir du $7^{ème}$ jour.

L'efficacité de chaque échantillon est déterminée en mesurant la croissance radiale mycélienne. Cette dernière est mesurée dans les deux directions à angle droit les uns aux autres. Une moyenne des deux mesures est effectuée pour chaque cas. Les données sont exprimées en pourcentage d'inhibition par rapport à la taille des colonies contrôles. Le pourcentage d'inhibition mycélienne est calculé à l'aide de la formule suivante **(Pinto *et al.*, 1998)**:

$$\text{Pourcentage d'inhibition mycélienne} = \frac{dc - dt}{dc} \times 100$$

dc : diamètre de la colonie contrôle.

dt : diamètre de la colonie traitée.

### 2.4. Évaluation de l'activité hémolytique des extraits de *Pituranthos scoparius* vis-à-vis des globules rouges humains

#### 2.4.1. Préparation de la suspension érythrocytaire

Du sang fraîchement prélevé sur tube hépariné est centrifugé à 4000 tours/minutes à 4°C pendant 5 minutes. Après élimination du surnageant, le culot est lavé deux fois avec le tampon phosphate de sodium salé (PBS) 10 mM, pH 7,4, puis resuspendu dans le PBS, à raison de 4000 cellules/mL après la dernière centrifugation.

#### 2.4.2. Mesure de la fuite de l'hémoglobine

À un volume de 0,5 mL de la suspension érythrocytaire, nous avons ajoutés 8,5 mL de tampon phosphate salé de sodium (PBS) 10 mM, pH 7,4. La suspension érythrocytaire est incubée à 37°C sous agitation continue pendant 90 minutes. Dès l'addition de l'extrait (1 mL) qui correspond au temps zéro, des prélèvements de 0,4 mL à partir de la solution réactionnelle sont réalisés à intervalle régulier de temps, pour être resuspendus dans 2 mL d'une solution de lavage glacée composée de $MgCl_2$ (2 mM) et NaCl (150 mM).

Après centrifugation à 4000 tours/min pendant 5 minutes, nous avons récupéré le surnagent sur lequel nous avons dosé la fuite d'hémoglobine par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 548 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Pour le contrôle positif, l'hémolyse totale est obtenue par la mise en suspension des globules rouges dans de l'eau distillée. Le tampon seul est utilisé comme contrôle négatif.

Pour chaque échantillon le pourcentage de l'activité hémolytique maximale est déterminée par l'équation **(Lee *et al.*, 2002)**:

$$\text{Taux d'hémolyse (\%)} = 100\% \times (A_{548\,nm} \text{ de l'échantillon} - A_{548\,nm} \text{ de contrôle négatif}) / A_{548\,nm} \text{ contrôle positif}$$

***Troisième partie***

***Résultats et interprétation***

## 1. Étude ethnopharmacologique

L'enquête ethnopharmacologique effectuée auprès de 200 personnes de la région de Béchar, montre que 75% des personnes interrogées déclarent connaitre *Pituranthos scoparius* comme plante médicinale.

Dans cette enquête nous nous sommes basés sur un certain nombre de critères, qui portent sur les aspects suivants :

- L'usage de la plante selon les classes d'âge, le sexe et le niveau d'instruction ;
- Les maladies traitées et la partie de la plante utilisée ;
- Mode de préparation et d'administration.

### 1.1. Classe d'âge et sexe d'appartenance

La répartition selon l'âge des personnes interrogées qui utilisent *Pituranthos scoparius* comme remède traditionnel est représenté dans le **tableau N°06**. Ces résultats montrent que le recours à la phytothérapie traditionnelle, augmentent avec l'âge. En effet, plus de 50% des personnes interrogées sont âgées de plus de 60 ans.

Le **tableau N°07** montre que dans les trois zones d'étude, aussi bien les hommes que les femmes sont concernés par la phytothérapie. L'examen des résultats montre que les femmes ont plus de connaissances sur les espèces médicinales par rapport aux hommes, avec un pourcentage de 87,01 % pour les femmes et 67,47 % pour les hommes.

**Tableau N°06 :** Répartition de la fréquence d'utilisation de *Pituranthos scoparius* selon la classe d'âge.

| **Classe d'âge** | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 27-37 ans | 38-48 ans | 49-59 ans | 60-70 ans | 70 à plus 80 ans |
| 7 % | 9 % | 26 % | 33% | 25 % |

**Tableau N°07 :** Répartition de la fréquence d'utilisation de *Pituranthos scoparius* selon le sexe.

| | **Nombre des connaisseurs de la plante** |
|---|---|
| Hommes (n=123) | 83 (67,47 %) |
| Femmes (n=77) | 67 (87,01 %) |

### 1.2. Niveau d'instruction

La majorité des utilisateurs de la plante sont des analphabètes (61%) ; 16 % ont le niveau primaire ; 11 et 12 % ont le niveau moyen et secondaire respectivement **(Tableau N°08)**.

**Tableau N°08 :** Répartition de la fréquence d'utilisation de *Pituranthos scoparius* selon le niveau d'instruction.

| **Niveau d'étude** | | | |
|---|---|---|---|
| Analphabète | Primaire | Moyen | Secondaire |
| 61% | 16% | 11% | 12% |

### 1.3. Les maladies traitées

L'analyse des résultats relatifs aux types de maladies traitées par *Pituranthos scoparius* nous montre que le traitement du rhume et de la toux sont les plus importants avec un pourcentage de 32 % de l'ensemble des pathologies. Viennent ensuite le traitement de la rougeole et la rubéole avec un pourcentage de 18 %, les infections urinaires, l'eczéma et l'utilisation post-partum (douleurs et spasmes) sont représentés par 13 %, 12 % et 11 % respectivement. Les infections respiratoires représentent 8 % des maladies traitées suivie par le rhumatisme avec 4 % et enfin les troubles digestifs avec 2 % **(Figure N°06)**.

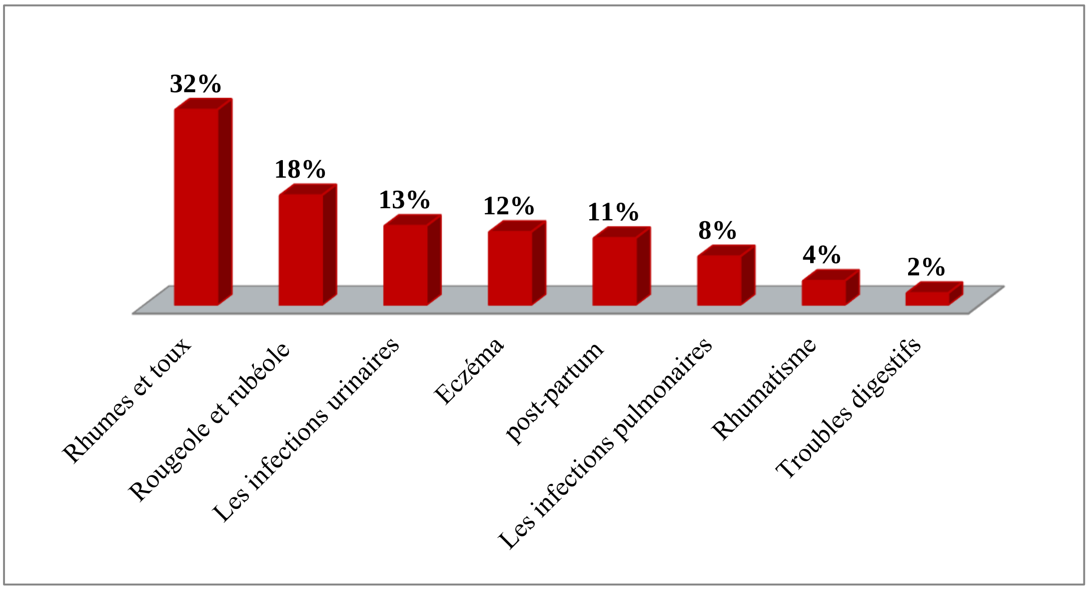



**Figure N° 06 :** Répartition des différentes utilisations thérapeutiques de *Pituranthos scoparius*.

### 1.4. Parties utilisées

Les résultats de l'enquête montrent que la partie aérienne fleurie de la plante est utilisée préférentiellement (90 %), par rapport aux racines (10 %) **(Tableau N°09)**.

**Tableau N°09 :** Répartition des différentes parties utilisées de *Pituranthos scoparius*.

| Parties utilisées | |
|---|---|
| Partie aérienne | Partie racine |
| 90% | 10% |

### 1.5. Mode de préparation et d'administration

Nous remarquons que la préparation en décoction est le mode le plus fréquent (86 %), suivie par l'infusion (11 %), alors que son usage sous forme de poudre est la moins utilisée par la population étudiée (3 %) **(Tableau N°10)**.

L'administration par voie orale est la règle générale c'est-à-dire que les remèdes préparés (infusion, décoction) sont bus (86 %), suivie par l'administration sous forme de poudre dont la matière végétale est mâchée ou avalée (5 %). En outre, la voie externe est parfois aussi d'usage sous forme de bain (6 %) ou cataplasmes (3 %) **(Tableau N°11)**.

**Tableau N°10** : Répartition des différents modes de préparation de *Pituranthos scoparius*.

| **Mode de préparation** | | |
|---|---|---|
| Décoction | Infusion | Poudre |
| 86 % | 11 % | 3 % |

**Tableau N°11** : Répartition des différents modes d'administrations de *Pituranthos scoparius*.

| **Mode d'administration** | | | |
|---|---|---|---|
| Boisson | Bain | Cataplasme | Poudre |
| 86 % | 6 % | 3 % | 5 % |

### 1.6. Efficacité et toxicité

D'après notre enquête tous les informateurs déclarent que la plante est excepte de toxicité. Concernant les effets indésirables de la phytothérapie, les usagers estiment que l'effet nocif des plantes médicinales n'est pas toujours dû à la plante elle-même, mais surtout à un non-respect (méconnaissance) de la dose adéquate. Cependant, les tradipraticiens soupçonnent la possibilité d'une contamination (micro-organismes pathogènes, résidus agrochimiques ou autres) involontaire pendant le stockage et écartent l'éventualité d'une erreur d'identification ou de préparation, excepté en cas d'automédication par les usagers.

## 2. Analyse phytochimique

### 2.1. Rendement des extraits de *Pituranthos scoparius*

Les résultats relatifs aux rendements d'extraction par les différents solvants sont indiqués dans les **tableaux N°12, 13** et **14**.

Les résultats d'extraction de la matière végétale obtenus par macération montrent que les extraits bruts de la partie aérienne sont récupérés avec un meilleur rendement par rapport à la partie racine. L'extrait aqueux donne le rendement le plus élevé, il est de 9,63 % suivi de l'extrait hydrométhanolique (8,67 %), l'extrait hydroacétonique (6,46 %) et enfin l'extrait chloroformique (4 %). Concernant les racines, le rendement le plus élevé est celui de l'extrait aqueux (5 %) suivi de l'extrait hydrométhanolique et hydroacétonique respectivement (3,71% et 3,31 %) **(Tableau N°12)**.

**Tableau N°12** : Rendement (%) des extraits obtenus par macération des deux parties de *Pituranthos scoparius* avec les différents solvants.

| **Extraits** | **Rendement (%)** | |
|---|---|---|
| | **Partie aérienne** | **Partie racine** |
| Aqueux | 9,63 | 5 |
| Eau/méthanol | 8,67 | 3,71 |
| Eau/acétone | 6,46 | 3,31 |
| Chloroforme | 4 | 1,5 |

La méthode d'extraction par reflux pendant 3 heures à 70°C présente un rendement relativement faible par rapport aux extractions par macération. Le meilleur rendement est obtenu avec l'extrait aqueux de la partie aérienne (8 %) suivi de l'extrait hydrométhanolique et hydroacétonique de la même partie avec des taux respectifs de 7,7 % et 7,4 % **(Tableau N°13)**.

**Tableau N°13** : Rendement (%) des extraits obtenus sous reflux des deux parties de *Pituranthos scoparius* avec les différents solvants.

| **Extraits** | **Rendement (%)** | |
|---|---|---|
| | **Partie aérienne** | **Partie racine** |
| Aqueux | 8 | 3 |
| Eau/méthanol | 7,70 | 3 |
| Eau/acétone | 7,4 | 3,50 |
| Chloroforme | 3,2 | 0,5 |

Nous constatons également que les fractions n-butanol ont un meilleur rendement par rapport aux fractions acétate d'éthyle. Aussi, les rendements d'extractions de la partie aérienne sont plus élevés que ceux de la partie racine **(Tableau N°14)**.

**Tableau N°14** : Rendement (%) des extraits obtenus par fractionnement des deux parties de *Pituranthos scoparius*.

| **Extraits** | **Rendement (%)** | |
|---|---|---|
| | **Partie aérienne** | **Partie racine** |
| F. Act/E.MeOH | 1,57 | 0,82 |
| F. n-B/E.MeOH | 2,16 | 0,90 |
| F. Act/E.Ac | 0,74 | 0,64 |
| F. n-B/E.Ac | 1,26 | 1,10 |

**F.Act/E.MeOH** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.n-B/E.MeOH** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.Act/E.Ac** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des tanins
**F.n-B/E.Ac** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des tanins

## 2.2. Tests pyhtochimiques

Les tests phytochimiques sont réalisés sur des extraits bruts dont l'extrait aqueux, eau/méthanol, eau/acétone et chloroforme, ainsi que sur les extraits spécifiques dont les fractions acétate d'éthyle et n-butanol des deux parties de *Pituranthos scoparius.*

### 2.2.1. Extraits bruts

Les résultats obtenus par macération ont révélé une forte présence des tanins cathéchiques et des coumarines dans tous les extraits testés à l'exception de l'extrait aqueux des racines. Tandis que les flavonoïdes sont fortement présents dans l'extrait eau/méthanol et l'extrait chloroformique de la partie aérienne mais faiblement présents dans les extraits eau/méthanol, eau/acétone des racines. Les extraits aqueux ne renferment aucune trace de flavonoïdes. Concernant les terpenoïdes, ils sont présents dans presque tous les extraits. En effet, l'extrait eau/méthanol de la partie aérienne renferme une quantité importante de terpénoïdes et à un degré moindre dans l'extrait chloroformique des racines. En revanche, nous remarquons que les saponosides et les anthraquinones sont absents dans l'ensemble des extraits. Ces résultats nous ont permis de mettre en évidence la richesse de la partie aérienne de notre plante en certains métabolites secondaires par rapport à la partie racine **(Tableau N°15)**.

**Tableau N°15** : Screening phytochimique des extraits de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération pendant 24h à température ambiante.

| Groupes chimiques \ Extraits | | Partie aérienne | | | | Partie racine | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **AQ** | **E/MeOH** | **E/Ac** | **CL** | **AQ** | **E/MeOH** | **E/Ac** | **CL** |
| **Flavonoïdes** | | - | +++ | - | ++ | - | + | + | ++ |
| **Stérols et triterpènes** | | ++ | +++ | + | +++ | - | ++ | ++ | +++ |
| **Terpénoïdes** | | + | +++ | + | + | + | + | + | ++ |
| **Saponosides** | | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Quinones** | | + | + | + | + | - | + | + | + |
| **Coumarines** | | + | +++ | +++ | ++ | ++ | +++ | +++ | ++ |
| **Alcaloïdes** | Mayer | - | - | + | +++ | - | + | - | +++ |
| | Wagner | - | - | + | - | - | - | - | ++ |
| **Tanins cathéchiques** | | +++ | +++ | +++ | + | - | ++ | ++ | + |
| **Tanins galliques** | | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Anthraquinones** | | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Composés réducteurs** | | +++ | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ |

**AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique.
**CL** : extrait chloroformique.
(-): Absent, (+): Présent, (++):moyennement présent, (+++): fortement présent.

En ce qui concerne les tests phytochimiques réalisés sur les extraits obtenus par extraction sous reflux, la composition en métabolites secondaires varie d'un extrait à un autre. Nous constatons une forte présence des terpénoïdes, des sucres réducteurs et des tanins cathéchiques dans tous les extraits à l'exception de l'extrait aqueux des racines qui est le plus pauvre en métabolites. Ce dernier ne contient que les terpénoïdes, les coumarines et les composés réducteurs. Par ailleurs, les alcaloïdes sont fortement présents dans les extraits chloroformiques particulièrement. Tandis que, les saponosides et les anthraquinones sont absents dans tous les extraits **(Tableau N°16)**.

**Tableau N°16** : Screening phytochimique des extraits de *Pituranthos scoparius* obtenus par extraction sous reflux pendant 3h à 70°C.

| Groupes chimiques / Extraits | | Partie aérienne | | | | Partie racine | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **AQ** | **E/MeOH** | **E/Ac** | **CL** | **AQ** | **E/MeOH** | **E/Ac** | **CL** |
| **Flavonoïdes** | | +++ | +++ | ++ | + | - | + | +++ | - |
| **Stérols et triterpènes** | | - | +++ | + | ++ | - | + | +++ | ++ |
| **Terpénoïdes** | | +++ | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ |
| **Saponosides** | | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Quinones** | | + | ++ | ++ | + | - | ++ | +++ | - |
| **Coumarines** | | + | + | + | ++ | + | + | - | + |
| **Alcaloïdes** | Mayer | - | - | - | ++ | - | + | ++ | ++ |
| | Wagner | - | - | - | ++ | - | - | - | - |
| **Tanins cathéchiques** | | +++ | +++ | +++ | + | - | + | ++ | + |
| **Tanins galliques** | | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Anthraquinones** | | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Composés réducteurs** | | ++ | +++ | +++ | +++ | + | +++ | +++ | +++ |

**AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique.
**CL** : extrait chloroformique.
(-): Absent, (+): Présent, (++): moyennement présent, (+++):fortement présent.

### 2.2.2. Extraits spécifiques

Les tests phytochimiques effectués sur les différentes fractions butanolique et acétate d'éthyle de *Pituranthos scoparius* ont donné les résultats présentés dans le **tableau N°17**.

Il ressort de ce tableau que les fractions acétate d'éthyle et n-butanol des deux parties de la plante contiennent des flavonoïdes, des quinones et des coumarines. Nous distinguons aussi que les fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait enrichi des tanins des deux parties de la plante sont riches en terpénoïdes, en quinones et en composés réducteurs. D'autre part, nous remarquons une richesse de la plante en tanins, sachant que la partie aérienne contient des tanins galliques tandis que la partie racine contient des tanins cathéchiques. En outre, une absence totale des anthraquinones, des stérols et des triterpènes est notée dans toutes les fractions étudiées.

**Tableau N°17** : Screening phytochimique des différentes fractions de *Pituranthos scoparius*.

| Groupes chimiques / Extraits | | Partie aérienne | | | | Partie racine | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **F.Act/ E.MeOH** | **F.n-B/ E.MeOH** | **F.Act/ E.Ac** | **F.nB/ E.Ac** | **F.Act/ E.MeOH** | **F.n-B/ E.MeOH** | **F.Act/ E.Ac** | **F.nB/ E.Ac** |
| **Flavonoïdes** | | +++ | ++ | - | +++ | + | ++ | - | + |
| **Stérols et triterpènes** | | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Terpénoïdes** | | ++ | +++ | + | +++ | +++ | - | ++ | + |
| **Saponosides** | | + | - | + | + | - | - | - | |
| **Quinones** | | +++ | +++ | ++ | +++ | ++ | ++ | +++ | + |
| **Coumarines** | | + | ++ | + | - | ++ | ++ | ++ | + |
| **Alcaloïdes** | Mayer | - | - | - | - | ++ | + | - | + |
| | Wagner | - | - | - | - | ++ | + | - | + |
| **Tannins cathéchiques** | | - | - | - | - | +++ | ++ | +++ | ++ |
| **Tanins galliques** | | +++ | +++ | +++ | +++ | - | - | - | - |
| **Anthraquinones** | | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Composés réducteurs** | | +++ | +++ | +++ | +++ | - | +++ | +++ | +++ |

**F.Act/E.MeOH** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.n-B/E.MeOH** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.Act/E.Ac** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des tanins
**F.n-B/E.Ac** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des tanins
(-): Absent, (+): Présent, (++):moyennement présent, (+++):fortement présent.

Il ressort de cette partie d'étude que :

- Les extraits obtenus ont une composition variable selon la nature du solvant utilisé, la partie de la plante étudiée et la méthode d'extraction.
- La partie aérienne est plus riche en métabolites secondaires que la partie racine.
- Les différents extraits se caractérisent par une richesse en tanins, en coumarines et en composés réducteurs. En outre, nous remarquons une absence totale des anthraquinones.

### 2.3. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux

Les résultats relatifs au dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EqAG/g), et en milligrammes équivalent de catéchine par gramme d'extrait (mg EqCA/g) respectivement. En utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique et de la catéchine **(Figure N°07 et 08)**.

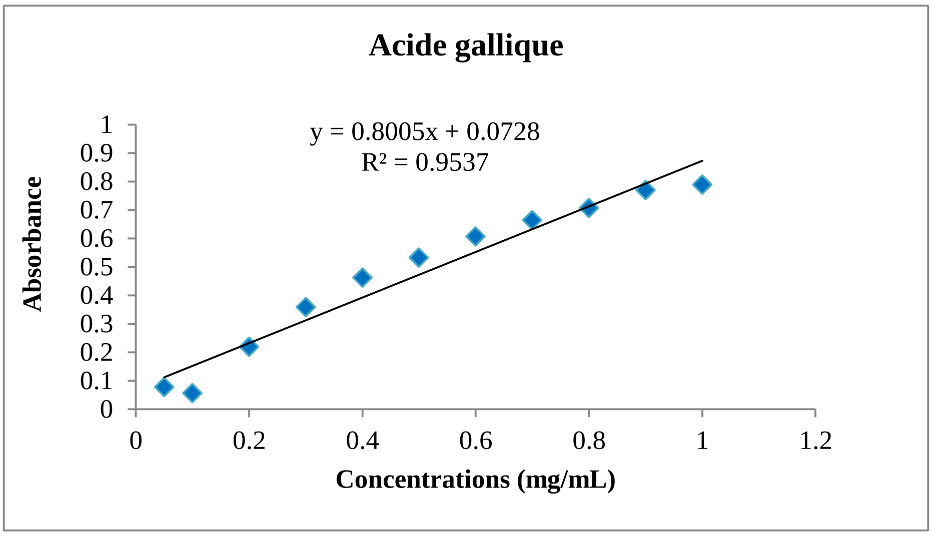



**Figure N°07 :** Courbe étalon de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

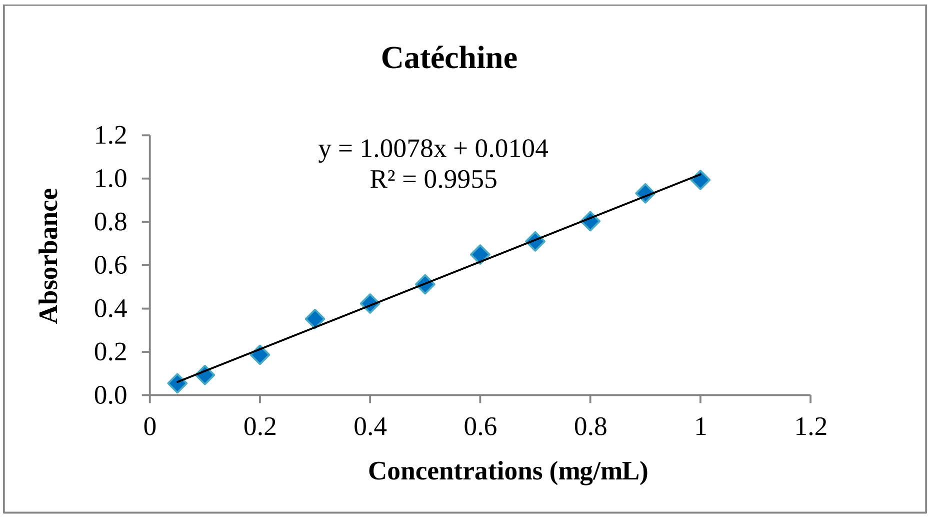



**Figure N°08:** Courbe étalon de catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

### 2.3.1. Extraits bruts

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les extraits de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération sont regroupés dans le **tableau N°18**. Nous remarquons que la teneur en polyphénols varie dans les deux parties étudiées de la plante. Les extraits hydroacétonique et hydrométhanolique de la partie aérienne renferment les taux les plus élevés en polyphénols, 6,16 mg EqAG/g E et 5,94 mg EqAG/g E respectivement. Les autres extraits contiennent de faibles teneurs.

Concernant la teneur en flavonoïdes totaux dans les différents extraits de la plante, nous constatons que l'extrait hydrométhanolique des racines renferme le taux le plus élevé 0,84 mg EqCA/gE, suivi de l'extrait aqueux et hydroacétonique de la même partie de la plante avec des taux de 0,64 et 0,4 mg EqCA/gE respectivement. Tandis que le reste des extraits renferment des teneurs comparables allant de 0,19 à 0,21 mg EqCA/g E.

**Tableau N°18 :** Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les extraits de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération.

| **Partie de la plante** | **Extraits** | **Polyphénols** mg EqAG /g d'extrait | **Flavonoïdes totaux** mg EqCA /g d'extrait |
|---|---|---|---|
| **Aérienne** | **AQ** | 2,20±0,02 | 0,21±0,006 |
| | **E/MeOH** | 5,94±0,01 | 0,21±0,009 |
| | **E/Ac** | 6,16±0,02 | 0,19±0,009 |
| **Racine** | **AQ** | 2,86±0,03 | 0,64±0,004 |
| | **E/MeOH** | 2,86±0,01 | 0,84±0,01 |
| | **E/Ac** | 2,64±0,02 | 0,40±0,06 |

**AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique.
**E/Ac** : extrait hydroacétonique.

Le dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux dans les extraits obtenus par extraction sous reflux a donné les résultats indiqués dans le **tableau N°19**, la teneur la plus élevée en polyphénols est celle de l'extrait hydrométhanolique 5,50 mgEqAG/g E de la partie aérienne, suivie de l'extrait aqueux, eau/méthanol et eau/acétone de la partie racine avec des taux de 4,18 ; 4,18 et 3,74 mg EqCA/g E respectivement.

Le taux de flavonoïdes totaux le plus élevé est obtenu avec l'extrait hydroacétonique 2,27 et 1,01 mg EqCA/g E de la partie aérienne et racine respectivement.

**Tableau N°19 :** Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les extraits de *Pituranthos scoparius* obtenus par reflux.

| **Partie de la plante** | **Extraits** | **Polyphénols** mg EqAG /g d'extrait | **Flavonoïdes totaux** mg EqCA /g d'extrait |
|---|---|---|---|
| **Aérienne** | **AQ** | 2,64±0,01 | 0,5±0 |
| | **E/MeOH** | 5,50±0,03 | 0,3±0 |
| | **E/Ac** | 3,19±0 | 2,27±0 |
| **Racine** | **AQ** | 4,18±0 | 0,2±0 |
| | **E/MeOH** | 4,18±0 | 0,7±0,01 |
| | **E/Ac** | 3,74±0 | 1,01±0 |

**AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique.
**E/Ac** : extrait hydroacétonique.

### 2.3.2. Extraits spécifiques

Le **tableau N°20** rassemble les résultats relatifs aux dosages des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans les fractions butanolique et acétate d'éthyle. Nous remarquons que la teneur en polyphénols dans la partie aérienne de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes est la plus élevée avec un taux de 10,35 mg EqAG/g E. Pour les racines, ce taux est de 8,14 mg EqAG/g E pour la même fraction.

Par ailleurs, nous remarquons une teneur relativement faible en flavonoïdes totaux dans les différentes fractions étudiées de la plante.

**Tableau N°20** : Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol de *Pituranthos scoparius*.

| **Partie de la plante** | **Extraits** | **Polyphénols** mg EqAG /g d'extrait | **Flavonoïdes totaux** mg EqCA /g d'extrait |
|---|---|---|---|
| **Aérienne** | **F.Act/E.MeOH** | 10,35±0 | 0,23±0,02 |
| | **F.n-B/E.MeOH** | 10,05±0,02 | 0,4±0,01 |
| | **F.Act/E.Ac** | 0,16±0,008 | 0,071±0,01 |
| | **F.n-B/E.Ac** | 0,26±0,003 | 0,041±0 |
| **Racine** | **F.Act/E.MeOH** | 8,14±0,02 | 1,83±0,007 |
| | **F.n-B/E.MeOH** | 5,78±0,01 | 0,20±0 |
| | **F.Act/E.Ac** | 0,27±0,003 | 0,10±0,005 |
| | **F.n-B/E.Ac** | 0,078±0,003 | 0,035±0,004 |

**F.Act/E.MeOH** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.n-B/E.MeOH** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.Act/E.Ac** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des tanins
**F.n-B/E.Ac** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des tanins

De cette partie d'étude, nous pouvons dire que :

- La teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux varie en fonction du solvant et de la partie de la plante utilisée.
- Les polyphénols et les flavonoïdes totaux sont plus concentrés dans la partie aérienne.
- Le taux de flavonoïdes totaux est plus faible que celui des polyphénols, cela nous permet de déduire que les polyphénols sont représentés majoritairement par la famille des tanins.

## 3. Analyses biologiques

### 3.1. Détermination du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*

L'activité antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius* a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations croissantes de chaque extrait. À partir des valeurs des densités optiques obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant.

Les valeurs obtenues nous ont permis de tracer des courbes représentées sur les **figures N°09, 10** et **11**. Nous avons déterminé graphiquement les valeurs d'$IC_{50}$ qui représente la concentration médiane d'inhibition du radical. Sa valeur est comparée à celle de l'acide ascorbique, molécule de référence.

#### 3.1.1. Extraits bruts

Les résultats du pouvoir antiradicalaire des extraits obtenus par macération, sont représentés sur la **figure N°09**. Les valeurs de leurs $IC_{50}$ et celle de l'acide ascorbique sont indiquées dans le **tableau N°21**. À une concentration de 250 µg/mL, les extraits de la partie aérienne présentent le pourcentage de réduction du DPPH le plus élevé : 98,43 % ; 88,13 % ; 83,52 % pour les extraits aqueux, eau/méthanol, eau/acétone respectivement. Contrairement aux extraits des racines qui ont un pourcentage de réduction de 82,23 % ; 71,57 % ; 71,56 % pour les extraits : eau/méthanol, eau/acétone et aqueux respectivement.
En fonction des résultats obtenus, l'acide ascorbique a montré une activité antiradicalaire très puissante avec une $IC_{50}$ de 3µg/mL.

Les extraits de la partie aérienne ont des valeurs d'$IC_{50}$ légèrement inférieures à celles des extraits de la partie racine où l'extrait aqueux de la partie aérienne présente la meilleure activité antiradicalaire avec une $IC_{50}$ de 45 µg/mL. De même que l'extrait hydrométhanolique de la partie aérienne et racine présentent une activité antiradicalaire considérable par rapport aux autres extraits, leurs valeurs d'$IC_{50}$ sont de 72,75 et 98,75 µg/mL respectivement. Tandis que les extraits hydroacétonique présentent des activités moyennes avec des $IC_{50}$ de 105,75µg/mL dans la partie aérienne et 111µg/mL dans la partie racine.

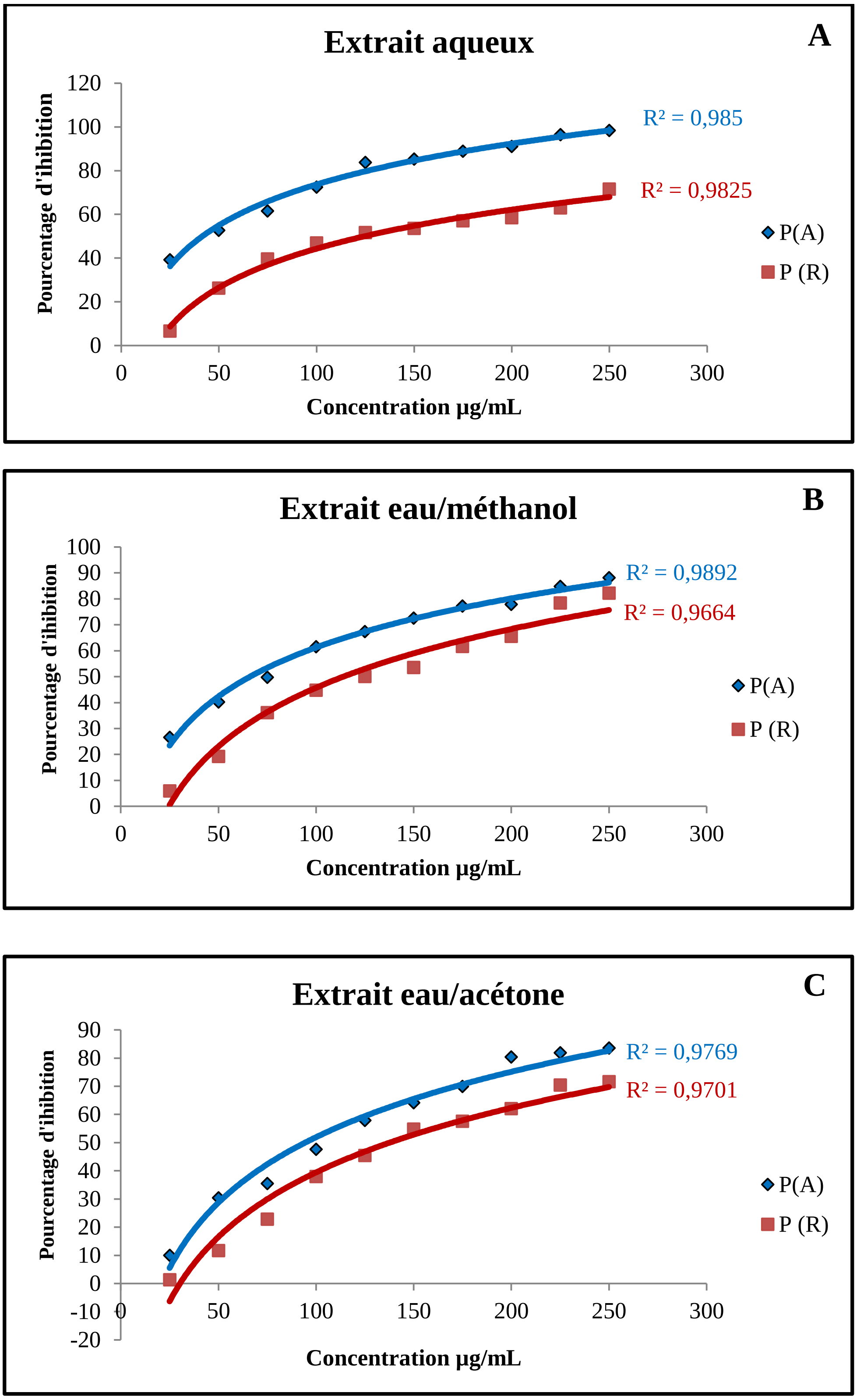



**Figure N°09** : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour les extraits aqueux **(A)**, eau/méthanol **(B)** et eau/acétone **(C)** obtenus par macération.

**Tableau N°21 :** Valeurs des $IC_{50}$ calculées pour les extraits des deux parties de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération.

| Partie de la plante / Extraits | $IC_{50}$ exprimées en µg/mL | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **AQ** | **E/MeOH** | **E/Ac** | **Ac asc** |
| **Aérienne** | 45± 0,03 | 72,75± 0,02 | 105,75±0,04 | 3±0,02 |
| **Racine** | 124±0,04 | 98,75±0,02 | 111±0,02 | |

**AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique.
**E/Ac** : extrait hydroacétonique. **Ac asc** : acide ascorbique

Les résultats du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius* obtenus par reflux, sont indiqués dans la **figure N°10**. Les valeurs de leurs $IC_{50}$ sont indiquées dans le **tableau N°22**. Nous remarquons qu'à une concentration de 250 µg/mL les extraits de la partie aérienne présentent le pourcentage de réduction du DPPH le plus élevé avec 82,81 % ; 80,56% pour les extraits eau/méthanol, eau/acétone respectivement. En revanche, les extraits des racines présentent un faible pourcentage de réduction avec 80,27 % ; 74,39 % ; 68,3% pour les extraits eau/acétone, eau/méthanol et aqueux respectivement.
Les extraits de la partie aérienne présentent des valeurs d'$IC_{50}$ légèrement inférieures à celles de la partie racine où l'extrait hydroacétonique de la partie aérienne présente la meilleure activité antiradicalaire avec une $IC_{50}$ de 104,6 µg/mL suivi de l'extrait hydrométhanolique avec une $IC_{50}$ de 107 µg/mL.

Notons que les extraits des racines présentent une activité moyenne avec des $IC_{50}$ qui varient entre 114,71 µg/mL et 134,01 µg/mL (**Tableau N°22**).

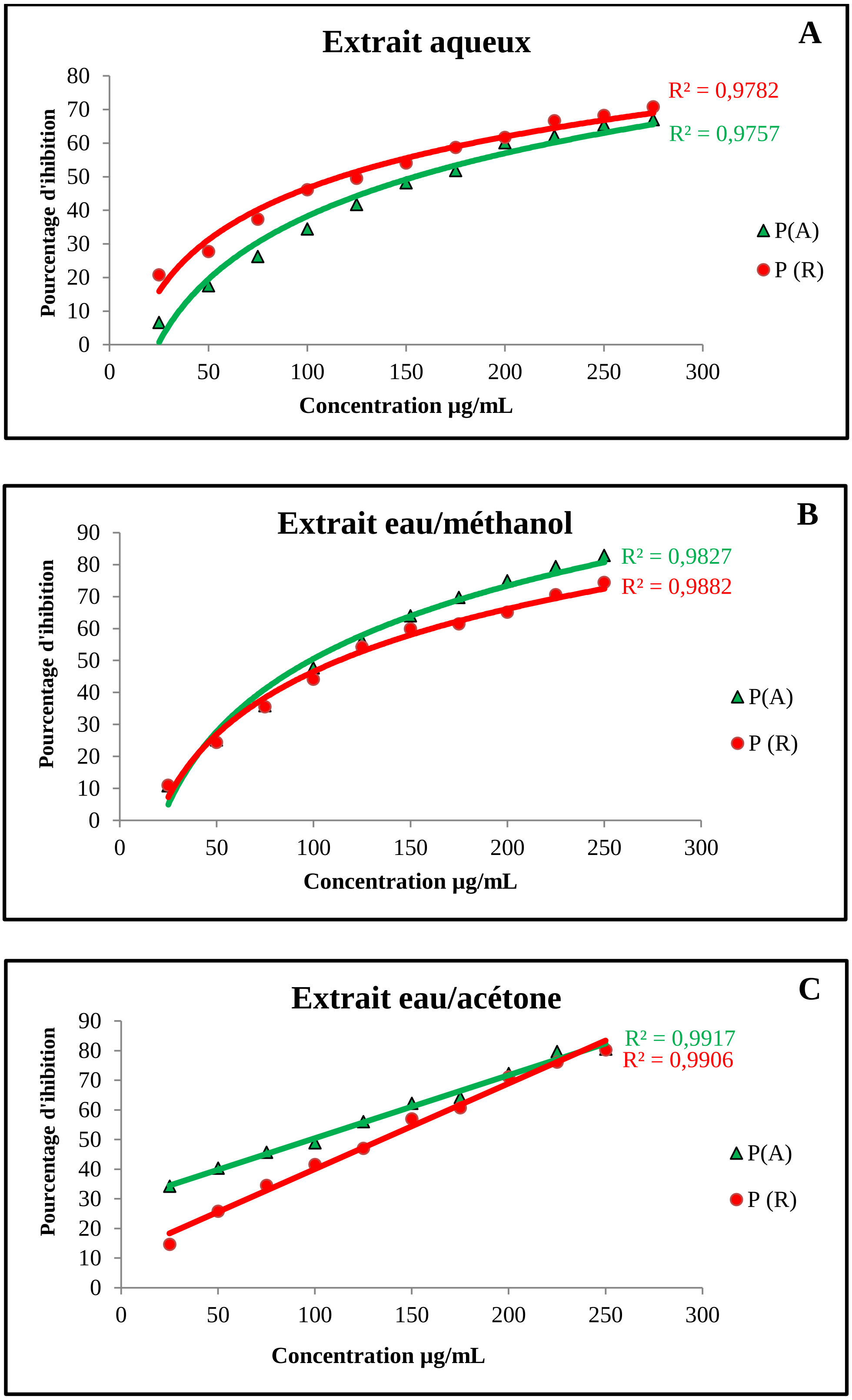



**Figure N°10** : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour les extraits aqueux **(A)**, eau/méthanol**(B)** et eau/acétone**(C)** obtenus par reflux.

**Tableau N°22 :** Valeurs des $IC_{50}$ calculées pour les extraits des deux parties de *Pituranthos scoparius* obtenus par reflux.

| Partie de la plante / Extraits | $IC_{50}$ exprimées en µg/mL | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **AQ** | **E/MeOH** | **E/Ac** | **Ac asc** |
| **Aérienne** | 160,62±0,01 | 107±0,03 | 104,6±0,04 | 3±0,02 |
| **Racine** | 127,38±0,01 | 114,71±0,05 | 134,01±0,02 | |
| **AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **Ac asc** : acide ascorbique | | | | |

### 3.1.2. Extraits spécifiques

D'après la **figure N°11**, les fractions d'acétate d'éthyle sont les plus actives par rapport aux fractions n-butanol avec un taux d'inhibition supérieur à 90 % à la concentration maximale 250 µg/mL.

Les valeurs d'$IC_{50}$ variant entre 34 et 176 µg/mL. La fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des tanins des racines est la plus active avec une $IC_{50}$ de 34 µg/mL, suivie de la même fraction de la partie aérienne (41,75 µg/mL) **(Tableau N°23)**.

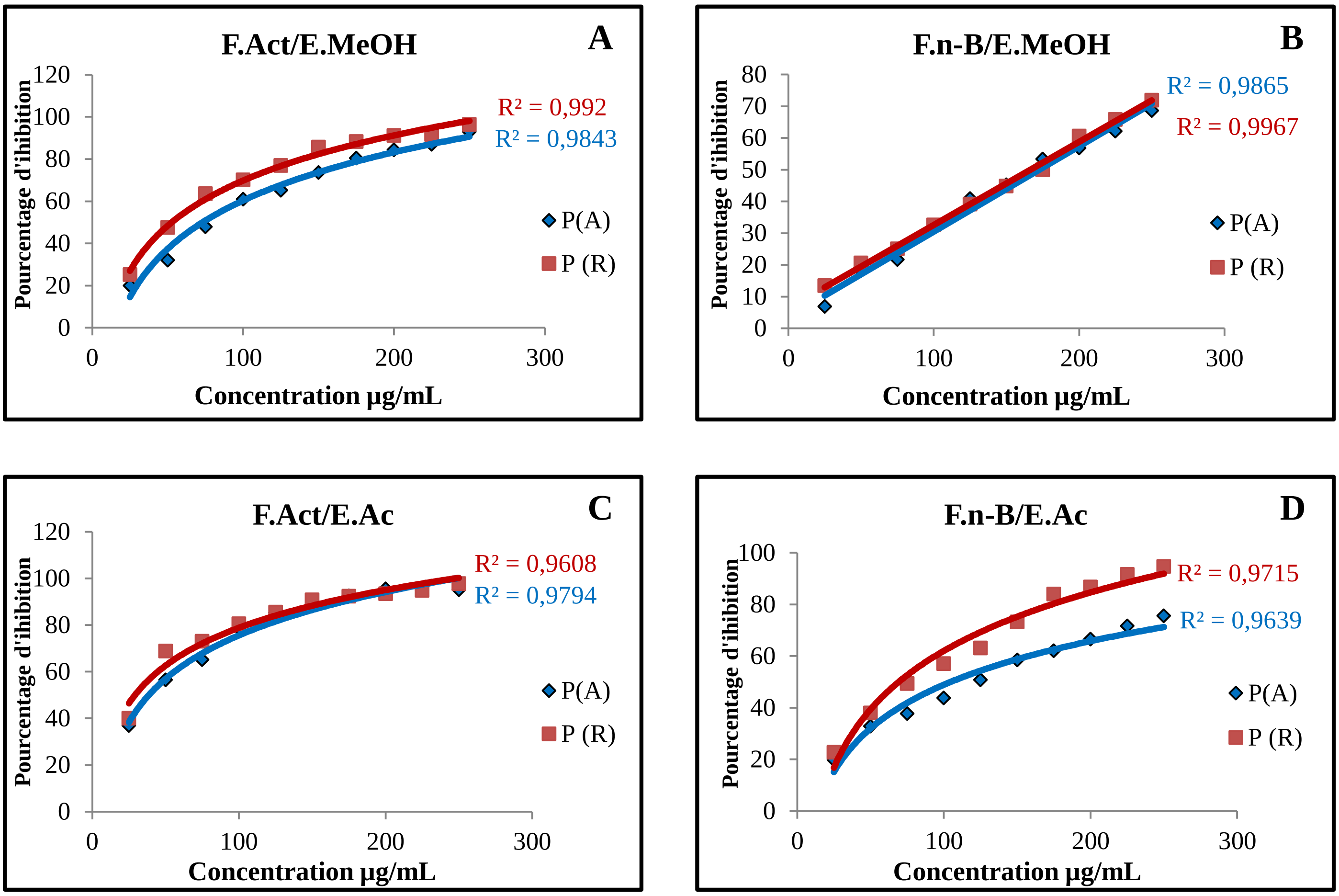



**Figure N°11** : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour les différentes fractions.

**Tableau N°23 :** Valeurs des $IC_{50}$ calculées pour les différentes fractions de *Pituranthos scoparius*.

| Partie de la plante / Extraits | $IC_{50}$ exprimées en µg/mL | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **F.Act/ E.MeOH** | **F.n-B /E.MeOH** | **F.Act/E.Ac** | **F.n-B/E.Ac** | **Ac asc** |
| **Aérienne** | 78,5 ±0,01 | 155,5± 0,007 | 41,75±0,01 | 123,75±0,005 | 3±0,02 |
| **Racine** | 51,25±0,01 | 176 ±0,003 | 34±0,005 | 76±0,01 | |

**F.Act/E.MeOH** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.n-B/E.MeOH** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.Act/E.Ac** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des tanins
**F.n-B/E.Ac** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des tanins

Au terme de cette partie de notre travail, nous pouvons dire que :

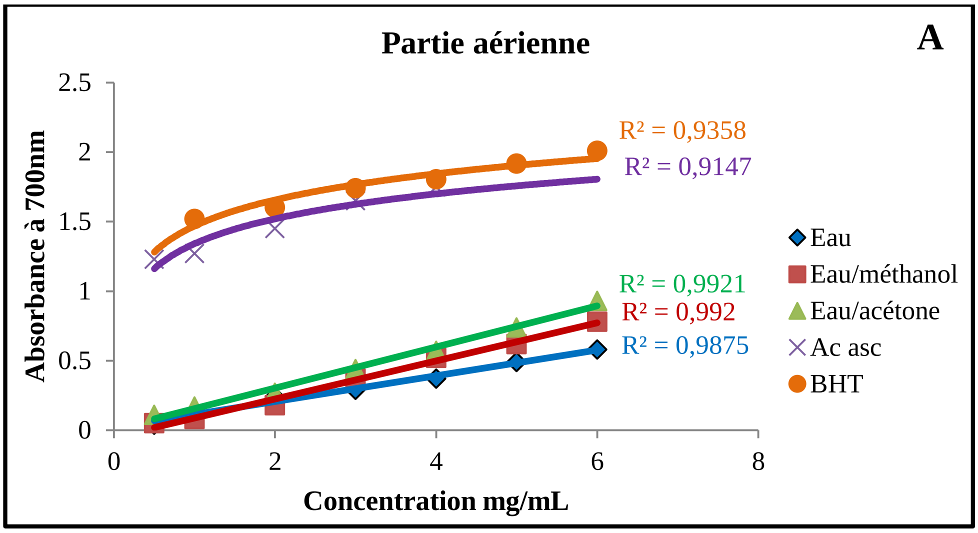
- L'ensemble des extraits testés ont des $IC_{50}$ relativement élevés par rapport à l'acide ascorbique qui est une molécule de référence pure et qui présente une activité antioxydante très forte.
- Les extraits de la partie aérienne montrent un pouvoir de piégeage du radical DPPH plus élevé par rapport aux extraits de la partie racine.
- Les extraits obtenus par macération présentent les valeurs d'$IC_{50}$ les plus basses, donc de meilleure activité par rapport aux extraits obtenus par reflux.

### 3.2. Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Pituranthos scoparius* par la méthode de réduction du Fer

Dans cette méthode, la détermination de l'activité antioxydante est basée sur la capacité des polyphénols à réduire le fer ferrique $Fe^{3+}$ en fer ferreux $Fe^{2+}$. En traçant les courbes des absorbances obtenues pour chaque extrait, nous remarquons que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos extraits. Les valeurs obtenues pour les extraits de *Pituranthos scoparius* sont comparées à celle de l'acide ascorbique et le BHT.

#### 3.2.1. Extraits bruts

Nous remarquons que les valeurs des absorbances à une concentration de 6 mg/mL des extraits des racines obtenues par macération sont de l'ordre de 1,11 ; 0,93 ; 0,78 pour les extraits aqueux, hydroacétonique et hydrométhanolique respectivement qui sont supérieurs aux absorbances de la partie aérienne, avec des valeurs de 0,93 ; 0,78 et 0,58 pour les extraits hydroacétonique, hydrométhanolique et aqueux respectivement **(Figure N°12)**.



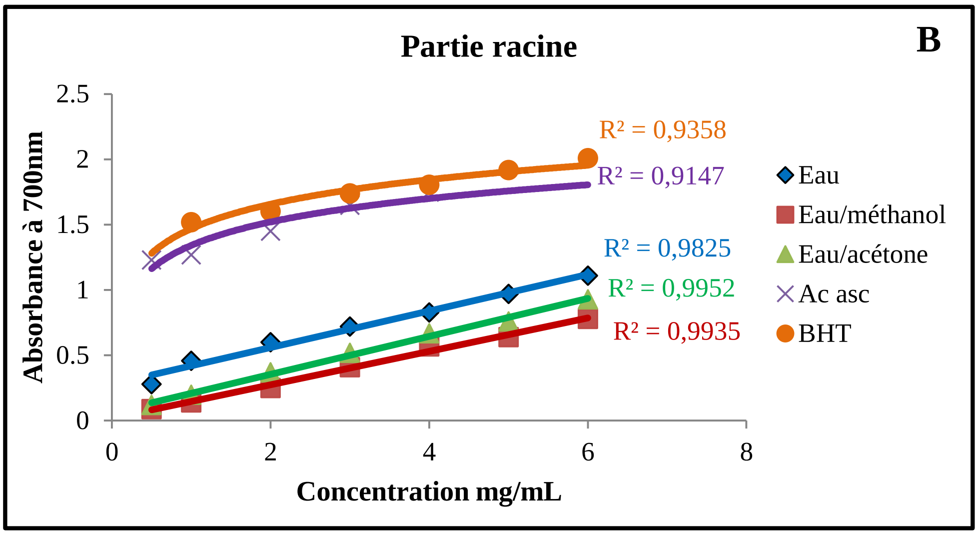
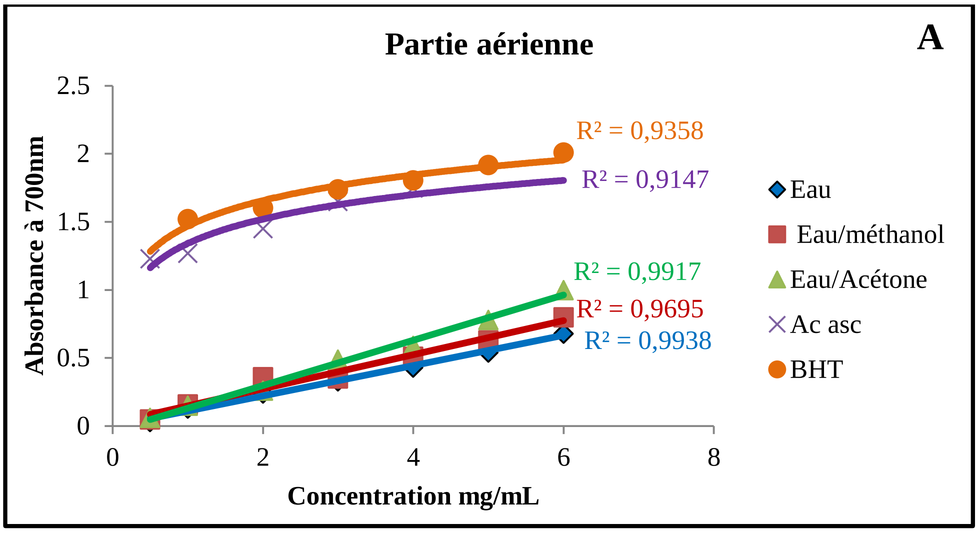




**Figure N°12** : Pouvoir réducteur des extraits de la partie aérienne **(A)** et racine **(B)** de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération.

Le pouvoir réducteur des extraits obtenus par extraction sous reflux des racines, présente une capacité à réduire le fer de l'ordre de 0,94 ; 0,90 ; 0,8 à une concentration de 6 mg/mL pour les extraits hydrométhanolique, hydroacétonique et aqueux respectivement, par rapport aux extraits eau/acétone, eau/méthanol et aqueux qui pour la même concentration présentent des taux de réductions de 1 ; 0,8 et 0,68 respectivement **(Figures N°13)**.



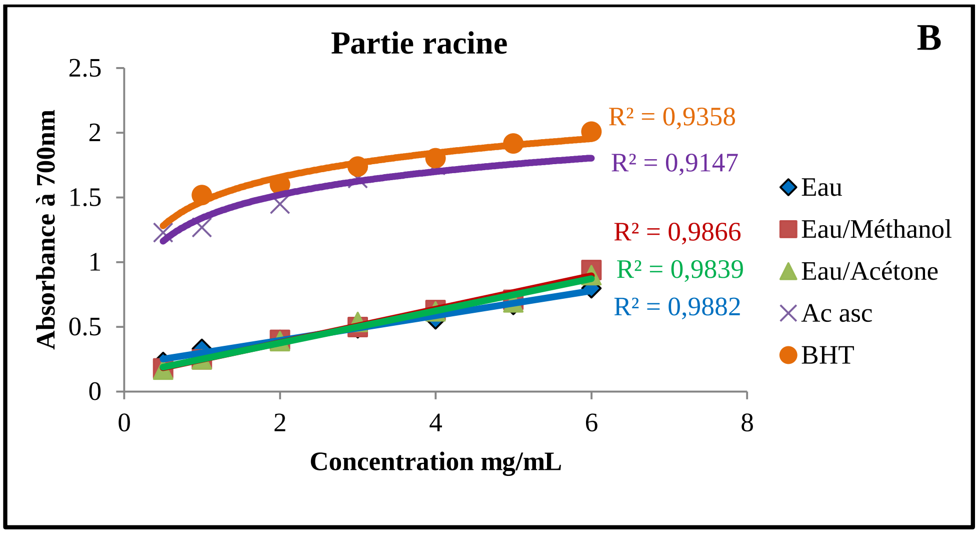
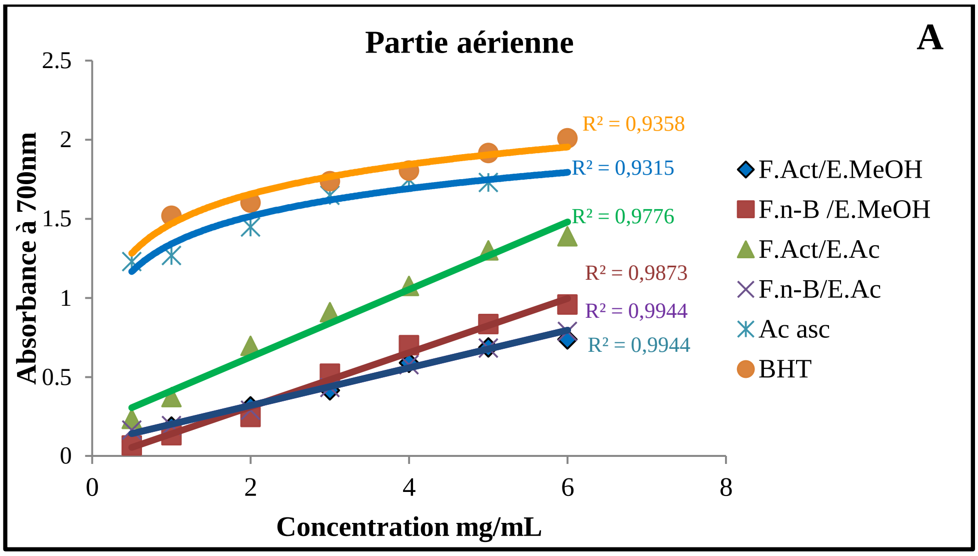




**Figure N°13** : Pouvoir réducteur des extraits de la partie aérienne **(A)** et racine **(B)** de *Pituranthos scoparius* obtenus par reflux.

### 3.2.2. Extraits spécifiques

Nous constatons que les fractions acétate d'éthyle et n-butanol des racines présentent une activité de réduction de fer plus intéressante par rapport à celles de la partie aérienne. Nous remarquons qu'à la concentration de 6 mg/mL, les absorbances obtenues sont égales à 1,73 pour les fractions acétate d'éthyle des extraits enrichis des flavonoïdes et des tanins. Concernant les fractions n-butanol des extraits enrichis des flavonoïdes et des tanins, les valeurs obtenues sont de l'ordre de 1,67 et 1,35 respectivement **(Figure N°14)**.



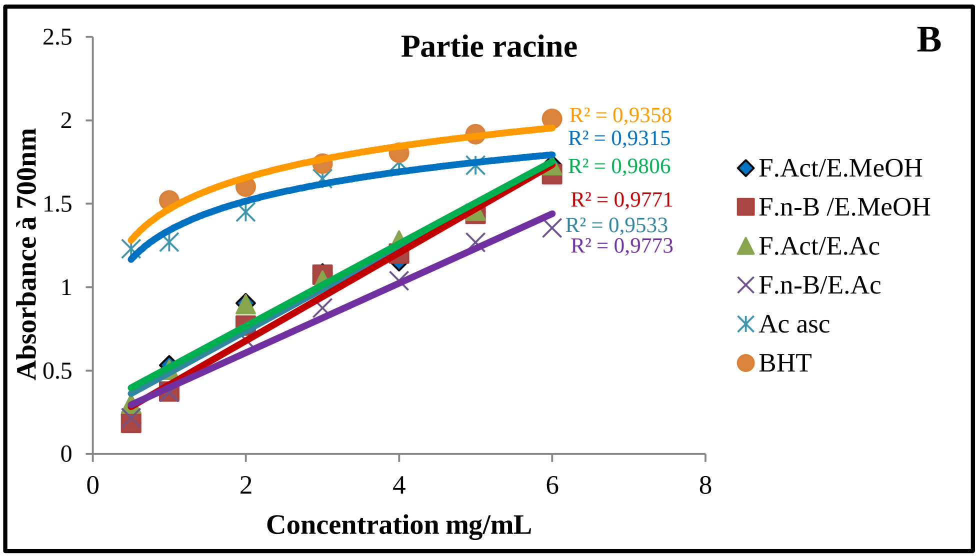




**Figure N°14** : Pouvoir réducteur des fractions de la partie aérienne **(A)** et racine **(B)** de *Pituranthos scoparius*.

Il ressort de cette partie de l'étude que :

- Les extraits testés ont montré une grande capacité à réduire le fer.
- La méthode d'extraction par macération a donnée des résultats relativement meilleurs que celles obtenus par la méthode sous reflux.
- La partie racine a une grande activité antioxydante par rapport à la partie aérienne.
- Les fractions des extraits spécifiques présentent une meilleure activité de réduction du fer par rapport aux extraits bruts.
- Les fractions acétate d'éthyle et n-butanol des racines ont donné de meilleurs résultats.

### 3.3. Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *Pituranthos scoparius*

L'évaluation de l'activité antibactérienne est réalisée par la technique de diffusion des disques sur milieu solide et la technique de microdilution en milieu liquide.

Seuls les extraits qui ont donné une bonne activité par la méthode des disques ont fait l'objet de la détermination de leurs Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI), et Bactéricides (CMB).

#### 3.3.1. Méthode de diffusion sur gélose

Le DMSO utilisé comme solvant pour dissoudre les extraits, a été testé au préalable pour sa neutralité vis-à-vis des souches bactériennes étudiées. Il est considéré comme un témoin négatif.

Les diamètres des zones d'inhibition de chaque souche bactérienne, par les différents extraits sont mesurés et les résultats obtenus sont résumés dans les **tableaux N°24** à **29**.

- **Extraits bruts**

Le **tableau N°24** regroupe les résultats de l'activité antibactérienne des extraits bruts de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération vis-à-vis de chacune des 14 souches bactériennes testées.

Nous constatons que :

- La gentamicine, antibiotique à large spectre utilisé comme témoin positif, présente des diamètres d'inhibition élevés par rapport à nos extraits vis-à-vis de toutes les souches testées.
- L'extrait eau/méthanol est le plus efficace, il est actif vis-à-vis de dix souches bactériennes. Le diamètre d'inhibition le plus élevé (15 mm) est obtenu vis-à-vis de *Bacillus subtilis.*
- L'extrait eau/acétone montre une activité antibactérienne relativement forte avec un diamètre d'inhibition de 22 mm vis-à-vis de *Proteus mirabilis,* et 17 mm vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa.*
- L'extrait aqueux ne montre aucune activité envers les souches testées.

**Tableau N°24** : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération vis-à-vis des différentes souches bactériennes.

| | Souches / Extraits | AQ | CL | E/MeOH | E/Ac | GENT |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Bactéries à Gram +** | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 | NA | NA | **12** | 7 | 23 |
| | *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300 | NA | **9** | 7 | 7 | 18 |
| | *Bacillus cereus* ATCC11778 | NA | **10** | **12** | **15** | 13 |
| | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | NA | **9** | **15** | **13** | 14 |
| | *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 | NA | NA | **9** | 7 | 16 |
| | *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 | NA | NA | **14** | 7 | 11 |
| **Bactéries à Gram -** | *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 | NA | 7 | **11,5** | **9** | 17 |
| | *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606 | NA | NA | NA | **9** | 13 |
| | *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 | NA | NA | **11,5** | NA | 14 |
| | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | NA | **9** | **10** | **17** | 21 |
| | *Proteus mirabilis* ATCC 35659 | 7 | NA | NA | **22** | 24 |
| | *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 | NA | NA | **11** | NA | 25,5 |
| | *Escherichia coli* ATCC 25933 | NA | NA | NA | NA | 14 |
| | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 | NA | 7 | **10** | NA | 29 |

**AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique.**CL** : extrait chloroformique. **GET**: Gentamicine. **NA**: activité nulle.

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits bruts de la partie racine de *Pituranthos scoparius*, obtenus par macération sont regroupés dans le **tableau N°25**.

D'après les résultats obtenus nous remarquons que :

- *Pseudomonas aeruginosa* est la plus sensible à l'extrait chloroformique avec un diamètre d'inhibition de 12,5 mm, suivie de *Staphylococcus aureus* MRSA (10 mm).
- *Bacillus subtilis* est sensible à l'extrait hydroacétonique avec un diamètre d'inhibition de 11mm.
- *Enterococcus faecalis* est sensible à l'extrait hydrométhanolique avec un diamètre d'inhibition de 10 mm.

**Tableau N°25** : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits de la partie racine de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération vis-à-vis des différentes souches bactériennes.

| | **Souches** / **Extraits** | **AQ** | **CL** | **E/MeOH** | **E/Ac** | **GENT** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Bactéries à Gram +** | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 | NA | NA | **8** | NA | 23 |
| | *Staphylococcus aureus*(MRSA) ATCC 43300 | NA | **10** | **10** | NA | 18 |
| | *Bacillus cereus* ATCC11778 | NA | NA | **9** | **9** | 13 |
| | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | NA | NA | 7 | **11** | 14 |
| | *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 | NA | NA | **10** | NA | 16 |
| | *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 | NA | **8** | NA | NA | 11 |
| **Bactéries à Gram -** | *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 | NA | NA | NA | NA | 17 |
| | *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606 | NA | NA | NA | NA | 13 |
| | *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 | NA | NA | NA | NA | 14 |
| | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | NA | **12,5** | NA | NA | 21 |
| | *Proteus mirabilis* ATCC 35659 | NA | NA | NA | NA | 24 |
| | *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 | NA | NA | NA | NA | 25,5 |
| | *Escherichia coli* ATCC 25933 | NA | NA | NA | NA | 14 |
| | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 | NA | **9** | NA | NA | 29 |

**AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique. **GET**: Gentamicine. **NA**: activité nulle.

Le **tableau N°26** regroupe les résultats relatifs à l'activité antibactérienne des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius,* obtenus par la méthode d'extraction sous reflux vis-à-vis des souches bactériennes testées.

D'après l'ensemble des résultats obtenus, nous remarquons que :

- L'extrait le plus actif est l'extrait hydrométhanolique. En effet, ce dernier, est actif vis-à-vis de huit souches bactériennes sur quatorze testées. Le diamètre le plus élevé est de 16 mm vis-à-vis de *Bacillus cereus.*
- L'extrait hydroacétonique est efficace vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa, Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis* avec des diamètres d'inhibition respectifs de 15 ; 12,5 et 12 mm.
- L'extrait chloroformique est actif envers *Bacillus cereus* avec un diamètre de 12 mm.

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits de la partie racine obtenus par la méthode d'extraction sous reflux, sont présentés dans le **tableau N°27**.

Nous constatons que :

- L'extrait chloroformique est le plus actif vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre d'inhibition de 16,5 mm.
- L'extrait hydrométhanolique présente des zones d'inhibition de 12 et 11 mm vis-à-vis de *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus* respectivement.
- L'extrait hydroacétonique présente une activité moyenne vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre d'inhibition de 9 mm.

**Tableau N°26** : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* obtenus par reflux vis-à-vis des différentes souches bactériennes.

| | Souches / Extraits | AQ | CL | E/MeOH | E/Ac | GENT |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Bactéries à Gram +** | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 | NA | **9** | **10** | NA | 23 |
| | *Staphylococcus aureus*(MRSA) ATCC 43300 | NA | **9** | **9** | NA | 18 |
| | *Bacillus cereus* ATCC11778 | NA | **12** | **16** | **12,5** | 13 |
| | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | NA | NA | **15** | **12** | 14 |
| | *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 | 7 | NA | 7 | NA | 16 |
| | *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 | NA | NA | NA | NA | 11 |
| **Bactéries à Gram -** | *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 | NA | NA | **11** | NA | 17 |
| | *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606 | NA | NA | 7 | 8 | 13 |
| | *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 | NA | NA | **13** | NA | 14 |
| | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | NA | NA | **9** | **15** | 21 |
| | *Proteus mirabilis* ATCC 35659 | NA | NA | NA | 6 | 24 |
| | *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 | 7 | NA | NA | 6 | 25,5 |
| | *Escherichia coli* ATCC 25933 | 7 | NA | 6 | NA | 14 |
| | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 | 7 | NA | **9** | NA | 29 |

**AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique. **GET**: Gentamicine. **NA**: activité nulle.

**Tableau N°27** : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits de la partie racine de *Pituranthos scoparius* obtenus par reflux vis-à-vis des différentes souches bactériennes.

| | Souches / Extraits | AQ | CL | E/MeOH | E/Ac | GENT |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Bactéries à Gram + | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 | NA | NA | NA | NA | 23 |
| | *Staphylococcus aureus*(MRSA) ATCC 43300 | NA | **10** | NA | NA | 18 |
| | *Bacillus cereus* ATCC11778 | NA | NA | **11** | 7 | 13 |
| | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | NA | NA | **12** | NA | 14 |
| | *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 | NA | NA | NA | NA | 16 |
| | *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 | NA | NA | NA | NA | 11 |
| Bactéries à Gram - | *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 | NA | NA | NA | NA | 17 |
| | *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606 | NA | NA | NA | NA | 13 |
| | *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 | NA | NA | NA | NA | 14 |
| | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | NA | **16,5** | NA | **9** | 21 |
| | *Proteus mirabilis* ATCC 35659 | NA | NA | NA | NA | 24 |
| | *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 | NA | NA | NA | NA | 25,5 |
| | *Escherichia coli* ATCC 25933 | NA | NA | NA | NA | 14 |
| | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 | NA | **10** | NA | NA | 29 |

**AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique. **GET** : Gentamicine. **NA** : activité nulle.

- **Extraits spécifiques**

Nous avons évalué l'activité antibactérienne des différentes fractions des extraits enrichis des flavonoïdes et des tanins obtenues à partir des deux parties de la plante **(Tableaux N°28** et **29)**.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que :

- La fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes des deux parties de la plante (aérienne et racine) montre une activité antibactérienne intéressante vis-à-vis de *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Salmonella typhimurium* et *Citrobacter freundii* avec des diamètres d'inhibition allant de 9 à 13 mm.
- La fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des tanins ne montre aucune activité vis-à-vis des souches testées à l'exception de la partie racine, qui est efficace contre *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de 12 mm.
- Une absence totale de l'activité est observée dans le cas de la fraction butanolique issue aussi bien de la partie aérienne que des racines vis-à-vis de l'ensemble des souches testées, à l'exception de *Citrobacter freundii* qui montre une sensibilité moyenne (8 mm).

**Tableau N°28** : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des différentes fractions de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* vis-à-vis des différentes souches bactériennes.

| | Souches / Extraits | F.Act/ E.MeOH | F.n-B/ E.MeOH | F.Act/ E.Ac | F.n-B/ E.Ac | GENT |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Bactéries à Gram + | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 | **13** | NA | NA | NA | 23 |
| | *Staphylococcus aureus*(MRSA) ATCC 43300 | NA | NA | NA | NA | 18 |
| | *Bacillus cereus* ATCC11778 | **10** | NA | 7 | NA | 13 |
| | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | **12** | NA | 7 | NA | 14 |
| | *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 | ND | ND | ND | ND | 16 |
| | *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 | 7 | 7 | NA | NA | 11 |
| Bactéries à Gram - | *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 | 7 | NA | NA | NA | 17 |
| | *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606 | 7 | 7 | 7 | NA | 13 |
| | *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 | NA | NA | NA | NA | 14 |
| | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | ND | ND | ND | ND | 21 |
| | *Proteus mirabilis* ATCC 35659 | NA | NA | NA | NA | 24 |
| | *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 | **9** | NA | NA | NA | 25,5 |
| | *Escherichia coli* ATCC 25933 | 7 | NA | NA | NA | 14 |
| | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 | **9** | **8** | NA | 7 | 29 |

**F.Act/E.MeOH** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.n-B/E.MeOH** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.Act/E.Ac** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des tanins
**F.n-B/E.Ac** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des tanins

**Tableau N°29** : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des différentes fractions de la partie racine de *Pituranthos scoparius* vis-à-vis des différentes souches bactériennes.

| | Souches / Extraits | F.Act/ E.MeOH | F.n-B/ E.MeOH | F.Act /E.Ac | F.n-B/ E.Ac | GENT |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Bactéries à Gram + | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 | **12** | NA | **12** | NA | 23 |
| | *Staphylococcus aureus*(MRSA) ATCC 43300 | NA | NA | NA | 7 | 18 |
| | *Bacillus cereus* ATCC11778 | **9** | NA | NA | NA | 13 |
| | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | **9** | NA | NA | NA | 14 |
| | *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 | ND | ND | ND | ND | 16 |
| | *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 | NA | NA | NA | NA | 11 |
| Bactéries à Gram - | *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 | NA | NA | 7 | NA | 17 |
| | *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606 | NA | NA | NA | NA | 13 |
| | *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 | NA | NA | 7 | NA | 14 |
| | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | ND | ND | ND | ND | 21 |
| | *Proteus mirabilis* ATCC 35659 | **10** | NA | NA | NA | 24 |
| | *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 | **9** | NA | NA | NA | 25,5 |
| | *Escherichia coli* ATCC 25933 | **9** | NA | NA | NA | 14 |
| | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 | **9** | NA | NA | 7 | 29 |

**F.Act/E.MeOH** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.n-B/E.MeOH** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.Act/E.Ac** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des tanins
**F.n-B/E.Ac** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des tanins

D’après l’analyse des résultats obtenus, nous pouvons déduire que :

- Les extraits obtenus par macération pendant 24 heures sont actifs sur un plus grand nombre de souches bactériennes comparés aux extraits obtenus par extraction sous reflux pendant 3h à 70°C.
- La partie aérienne présente une meilleure activité par rapport à la partie racine.
- L’extrait aqueux ne présente aucune activité vis-à-vis des bactéries testées.
- Les extraits bruts présentent une meilleure activité par rapport aux différentes fractions.
- Les extraits eau/méthanol et eau/acétone sont les plus actifs, quel que soit la méthode d’extraction utilisée et la partie étudiée de la plante. Nous pouvons dire que la partie aérienne est plus riche en composés actifs et que les solvants mixtes eau/méthanol et eau/acétone permettent d’extraire en plus grande quantité et diversité par rapport à l’eau.
- Les bactéries à Gram positif sont plus sensibles que les bactéries à Gram négatif.
- Les souches les plus sensibles vis-à-vis de l’ensemble des extraits testés sont : *Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* MRSA, *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Enterococcus faecalis, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa.*

### 3.3.2. Méthode de microdilution en milieu liquide

Seuls les extraits ayant présentés un diamètre d'inhibition supérieur à 8 mm sont utilisés pour la détermination des CMI et des CMB.

- **Extraits bruts**

Les résultats de détermination des CMI et des CMB des extraits de la partie aérienne obtenus par macération sont présentés dans le **tableau N°30**.

Les résultats montrent que :

- La gentamicine montre une activité antibactérienne puissante vis-à-vis des souches testées.
- L'extrait hydroacétonique est l'extrait le plus efficace avec une CMI de 1,04 mg/mL et une CMB de1,56 mg/mL vis-à-vis de *Salmonella typhimurium*.
- La CMI la plus intéressante obtenue pour l'extrait hydrométhanolique est égale à 1,56 mg/mL vis-à-vis d'*Enterococcus faecalis*.
- L'extrait chloroformique présente la CMI la plus intéressante vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* (3,12 mg/mL).

Les résultats relatifs aux extraits des racines, sont présentés dans le **tableau N°31.**

D'après ces résultats, nous constatons que :

- L'extrait hydrométhanolique a montré l'activité la plus importante vis-à-vis d'*Acinetobacter baumanii* avec une CMI de 6,25 mg/mL.
- L'extrait chloroformique et hydroacétonique sont en deuxième position avec des CMI de 12,5 mg/mL et de 25 mg/mL vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* respectivement.
- Les autres extrais montrent des CMI et des CMB relativement élevées.

**Tableau N°30** : Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Bactéricides (CMB) des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération (mg/mL).

| | Souches / Extraits | CMI | | | CMB | | | CMI GNT (µg/mL) | CMB GNT (µg/mL) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | CL | E/MeOH | E/Ac | CL | E/MeOH | E/Ac | | |
| Bactéries à Gram + | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 | 3,12 | 6,25 | 2,6 | 3,12 | 12,5 | 16,66 | 0,19 | 0,19 |
| | *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300 | 12,5 | 4,16 | 12,5 | 25 | 8,33 | 25 | 0,39 | 1,56 |
| | *Bacillus cereus* ATCC11778 | 6,25 | 12,5 | 4,16 | 6,25 | 50 | 8,33 | 0,19 | 0,19 |
| | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | 6,25 | 6,25 | 3,12 | 6,25 | 16,66 | 5,20 | 5,20 | 6,25 |
| | *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 | 6,25 | 1,56 | 8,33 | 6,25 | 3,12 | 12,5 | 0,78 | 0,78 |
| | *Listeria monocytogenes* ATCC19115 | 12,5 | 25 | 12,5 | 50 | 50 | 25 | 2,21 | 2,21 |
| Bactéries à Gram - | *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 | 50 | 12,5 | 4,68 | 50 | 16,66 | 12,5 | 2,60 | 5,20 |
| | *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606 | 6,25 | 3,12 | 9,37 | 8,33 | 3,12 | 17,70 | 0,65 | 0,78 |
| | *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 | 25 | 12,5 | 6,25 | 50 | 12,5 | 6,25 | 4,16 | 8,33 |
| | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | 25 | 12,5 | 3,12 | 50 | 25 | 12,5 | 0,78 | 1,56 |
| | *Proteus mirabilis* ATCC 35659 | 12,5 | 6,25 | 4,16 | 25 | 12,5 | 50 | 0,19 | 0,19 |
| | *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 | 50 | 8,33 | 1,04 | 50 | 8,85 | 1,56 | 0,65 | 0,65 |
| | *Escherichia coli* ATCC 25933 | 12,5 | 4,16 | >50 | 50 | 12,5 | >50 | 0,32 | 0,32 |
| | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 | 16,66 | 16,66 | 12,5 | 25 | 20,83 | 12,5 | 0,19 | 0,19 |

**E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique. **GET**: Gentamicine.

**Tableau N°31** : Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Bactéricides (CMB) des extraits de la partie racine de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération (mg/mL).

| | Souches / Extraits | CMI | | | CMB | | | CMI | CMB |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | CL | E/MeOH | E/Ac | CL | E/MeOH | E/Ac | GNT (µg/mL) | |
| Bactéries à Gram + | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 | 12,5 | 16,66 | 25 | 16,66 | 33,33 | 41,66 | 0,19 | 0,19 |
| | *Staphylococcus aureus*(MRSA) ATCC 43300 | 20,83 | 8,33 | 50 | 25 | 25 | 50 | 0,39 | 1,56 |
| | *Bacillus cereus* ATCC11778 | 25 | 33,33 | 25 | 25 | 50 | 25 | 0,19 | 0,19 |
| | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | 20,83 | 50 | 50 | 41,66 | 50 | 50 | 5,20 | 6,25 |
| | *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 | 20,83 | 25 | 41,66 | 41,66 | 33,33 | 41,66 | 0,78 | 0,78 |
| | *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 | 20,83 | 25 | 25 | 50 | 25 | 25 | 2,21 | 2,21 |
| Bactéries à Gram - | *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 | 20,83 | 8,33 | 33,33 | 25 | 25 | 50 | 2,60 | 5,20 |
| | *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606 | 16,66 | 6,25 | 25 | 25 | 6,25 | 33,33 | 0,65 | 0,78 |
| | *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 | 20,83 | 50 | 41,66 | 25 | 50 | 41,66 | 4,16 | 8,33 |
| | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | 20,83 | 33,33 | 50 | 25 | 33,33 | 50 | 0,78 | 1,56 |
| | *Proteus mirabilis* ATCC 35659 | 25 | 50 | 50 | 25 | 50 | 50 | 0,19 | 0,19 |
| | *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 | 20,83 | 6,25 | 33,33 | 20,83 | 25 | 50 | 0,65 | 0,65 |
| | *Escherichia coli* ATCC 25933 | >50 | 25 | 25 | >50 | 25 | 25 | 0,32 | 0,32 |
| | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 | 16,66 | 25 | 25 | 50 | 25 | 50 | 0,19 | 0,19 |

**E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique. **GET**: Gentamicine.

Les résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* obtenus par reflux sont présentés dans le **tableau N°32**.

D'après l'ensemble des résultats, nous remarquons que :

- Les extraits obtenus sont plus actifs vis-à-vis des bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif.
- L'extrait hydrométhanolique est le plus actif avec une CMI de 1,56 mg/mL et une CMB de 3,12 mg/mL vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* MRSA.
- Les CMI les plus intéressantes pour l'extrait chloroformique et hydroacétonique sont égales à 6,25 mg/mL vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Enterobacter cloacae* respectivement.

Les résultats relatifs à l'évaluation des CMI et des CMB des extraits des racines de *Pituranthos scoparius* obtenus par reflux sont présentés dans le **tableau N°33**.

Nous constatons que :

- L'extrait eau/méthanol a présenté la meilleure CMI et CMB vis-à-vis d'*Enterococcus faecalis* avec respectivement 1,56 et 3,12 mg/mL.
- L'extrait eau/acétone présente une CMI et une CMB de 3,12 et 6,25 mg/mL respectivement vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* MRSA, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhimurium.*

**Tableau N°32** : Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Bactéricides (CMB) des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* obtenus par reflux (mg/mL).

| | Souches / Extraits | CMI | | | CMB | | | CMI | CMB |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **CL** | **E/MeOH** | **E/Ac** | **CL** | **E/MeOH** | **E/Ac** | **GNT (µg/mL)** | |
| **Bactéries à Gram +** | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 | 6,25 | 3,12 | 12,5 | 6,25 | 25 | 25 | 0,19 | 0,19 |
| | *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300 | 12,5 | 1,56 | 25 | 25 | 3,12 | 50 | 0,39 | 1,56 |
| | *Bacillus cereus* ATCC11778 | 12,5 | 3,12 | 12,5 | 12,5 | 6,25 | 25 | 0,19 | 0,19 |
| | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | 12,5 | 3,12 | 12,5 | 12,5 | 6,25 | 25 | 5,20 | 6,25 |
| | *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 | 12,5 | 6,25 | 12,5 | 50 | 12,5 | 25 | 0,78 | 0,78 |
| | *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 | 50 | 25 | 25 | 50 | 50 | >50 | 2,21 | 2,21 |
| **Bactéries à Gram -** | *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 | 6,25 | 12,5 | 6,25 | 50 | 25 | 50 | 2,60 | 5,20 |
| | *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606 | 12,5 | >50 | 25 | 25 | >50 | 25 | 0,65 | 0,78 |
| | *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 | 12,5 | 12,5 | 50 | 12,5 | 25 | 50 | 4,16 | 8,33 |
| | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | 12,5 | 12,5 | 12,5 | 50 | 25 | 50 | 0,78 | 1,56 |
| | *Proteus mirabilis* ATCC 35659 | 12,5 | 6,25 | 12,5 | 50 | 25 | 12,5 | 0,19 | 0,19 |
| | *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 | 12,5 | 6,25 | 12,5 | 25 | 25 | 25 | 0,65 | 0,65 |
| | *Escherichia coli* ATCC 25933 | 50 | 3,12 | 12,5 | 50 | 12,5 | 25 | 0,32 | 0,32 |
| | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 | 12,5 | 25 | 25 | 12,5 | 50 | 50 | 0,19 | 0,19 |

**E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique. **GET**: Gentamicine.

**Tableau N°33 :** Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Bactéricides (CMB) des extraits de la partie racine de *Pituranthos scoparius* obtenus par reflux (mg/mL).

| | Souches / Extraits | CMI | | | CMB | | | CMI | CMB |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | CL | E/MeOH | E/Ac | CL | E/MeOH | E/Ac | GNT (µg/mL) | |
| **Bactéries à Gram +** | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 | 25 | 6,25 | 3,12 | 25 | 12,5 | 6,25 | 0,19 | 0,19 |
| | *Staphylococcus aureus*(MRSA) ATCC 43300 | 25 | 3,12 | 3,12 | 25 | 6,25 | 6,25 | 0,39 | 1,56 |
| | *Bacillus cereus* ATCC11778 | 12,5 | >50 | 6,25 | 25 | >50 | 6,25 | 0,19 | 0,19 |
| | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | 12,5 | 12,5 | 12,5 | 50 | >50 | 12,5 | 5,20 | 6,25 |
| | *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 | 6,25 | 1,56 | 6,25 | 12,5 | 3,12 | 6,25 | 0,78 | 0,78 |
| | *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 | 12,5 | 3,12 | 12,5 | 25 | 25 | 12,5 | 2,21 | 2,21 |
| **Bactéries à Gram -** | *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 | 25 | 12,5 | 6,25 | 25 | 25 | 12,5 | 2,60 | 5,20 |
| | *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606 | 12,5 | 6,25 | 6,25 | 12,5 | 12,5 | 25 | 0,65 | 0,78 |
| | *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 | 6,25 | 50 | 25 | 12,5 | 50 | 50 | 4,16 | 8,33 |
| | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | 12,5 | 12,5 | 12,5 | 25 | 25 | 12,5 | 0,78 | 1,56 |
| | *Proteus mirabilis* ATCC 35659 | 12,5 | 12,5 | 12,5 | 25 | 12,5 | 50 | 0,19 | 0,19 |
| | *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 | 12,5 | 6,25 | 3,12 | 25 | 12,5 | 6,25 | 0,65 | 0,65 |
| | *Escherichia coli* ATCC 25933 | >50 | >50 | 12,5 | >50 | >50 | 12,5 | 0,32 | 0,32 |
| | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 | 12,5 | 12,5 | 12,5 | 25 | 12,5 | 12,5 | 0,19 | 0,19 |

**E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique. **GET**: Gentamicine.

- **Extraits spécifiques**

L'ensemble des résultats obtenus pour les différentes fractions de la partie aérienne sont regroupés dans le **tableau N°34**.

Nous remarquons que :

- La fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes présente les meilleures CMI vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus et Klebsiella pneumoniae,* avec des CMI de 3,12 mg/mL.
- La fraction n-butanol de l'extrait enrichi des flavonoïdes est active vis-à-vis de *Citrobacter freundii* et *Salmonella typhimurium* avec des CMI et des CMB de 3,12 et 25 mg/mL respectivement.

Les résultats relatifs à l'évaluation des CMI et des CMB des différentes fractions des racines vis-à-vis des différentes bactéries sont présentés dans le **tableau N°35**.

Nous remarquons que les CMI et les CMB les plus intéressantes sont obtenues par les fractions acétate d'éthyle des extraits enrichis des flavonoïdes et des tanins vis-à-vis de *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis,* avec respectivement 1,56 et 3,12 mg/mL. Des CMI supérieur à 50 mg/mL pour les fractions butanoliques sont observées vis-à-vis de toutes les souches testées.

**Tableau N°34** : Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Bactéricides (CMB) des différentes fractions de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* (mg/mL).

| | Souches / Extraits | CMI | | | | CMB | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **F.Act/ E.MeOH** | **F.n-B/ E.MeOH** | **F.Act/E.Ac** | **F.n-B/ E.Ac** | **F.Act/ E.MeOH** | **F.n-B/ E.MeOH** | **F.Act/E.Ac** | **F.n-B/ E.Ac** |
| **Bactéries à Gram +** | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 | 3,12 | 12,5 | 25 | 25 | 6,25 | 50 | 25 | 50 |
| | *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300 | 12,5 | 12,5 | 12,5 | 50 | 25 | 25 | 50 | 50 |
| | *Bacillus cereus* ATCC11778 | 3,12 | 6,25 | 6,25 | 12,5 | 12,5 | 25 | 50 | 50 |
| | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | 6,25 | 6,25 | 25 | 25 | 6,25 | 25 | 25 | 50 |
| | *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 | 12,5 | 6,25 | 25 | 12,5 | 12,5 | 50 | 25 | 50 |
| **Bactéries à Gram -** | *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 | 25 | 25 | 50 | 25 | 50 | 50 | 50 | >50 |
| | *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606 | 12,5 | 12,5 | 12,5 | 25 | 12,5 | 50 | 25 | 50 |
| | *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 | 3,12 | 6,25 | 6,25 | 12,5 | 12,5 | 25 | 25 | 50 |
| | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | *Proteus mirabilis* ATCC 35659 | 25 | 6,25 | 25 | >50 | 25 | 25 | 50 | 50 |
| | *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 | 25 | 3,12 | 25 | 12,5 | 12,5 | 25 | 50 | 50 |
| | *Escherichia coli* ATCC 25933 | 12,5 | 6,25 | 25 | >50 | 6,25 | 25 | 12,5 | 50 |
| | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 | 6,25 | 3,12 | 25 | 12,5 | 6,25 | 25 | 25 | 50 |

**F.Act/E.MeOH** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes. **F.n-B/E.MeOH** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des flavonoïdes.
**F.Act/E.Ac** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des tanins. **F.n-B/E.Ac** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des tanins.

**Tableau N°35** : Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Bactéricides (CMB) des différentes fractions de la partie racine de *Pituranthos scoparius* (mg/mL).

| | Souches / Extraits | CMI | | | | CMB | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **F.Act/ E.MeOH** | **F.n-B/ E.MeOH** | **F.Act/E.Ac** | **F.n-B/ E.Ac** | **F.Act/ E.MeOH** | **F.n-B/ E.MeOH** | **F.Act/E.Ac** | **F.n-B/ E.Ac** |
| **Bactéries à Gram +** | *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 | 12,5 | >50 | 25 | >50 | 12,5 | >50 | 12,5 | >50 |
| | *Staphylococcus aureus*(MRSA) ATCC 43300 | 12,5 | >50 | 50 | >50 | 3,12 | >50 | 25 | >50 |
| | *Bacillus cereus* ATCC11778 | 1,56 | >50 | 1,56 | >50 | 3,12 | >50 | 6,25 | >50 |
| | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | 1,56 | >50 | 1,56 | >50 | 3,12 | >50 | 12,5 | >50 |
| | *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 | 25 | >50 | 50 | >50 | 6,25 | >50 | 25 | >50 |
| **Bactéries à Gram -** | *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 | 25 | >50 | 25 | >50 | 25 | >50 | 25 | >50 |
| | *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606 | 50 | >50 | 50 | >50 | 6,25 | >50 | 12,5 | >50 |
| | *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 | 12,5 | >50 | 25 | >50 | 12,5 | >50 | 12,5 | >50 |
| | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | *Proteus mirabilis* ATCC 35659 | 3,12 | >50 | 12,5 | >50 | 12,5 | >50 | 12,5 | >50 |
| | *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 | 12,5 | >50 | 25 | >50 | 25 | >50 | 50 | >50 |
| | *Escherichia coli* ATCC 25933 | 25 | >50 | 25 | >50 | 6,25 | >50 | 25 | >50 |
| | *Citrobacter freundii* ATCC 8090 | 25 | >50 | 25 | >50 | 6,25 | >50 | 25 | >50 |

**F.Act/E.MeOH** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes. **F.n-B/E.MeOH** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.Act/E.Ac** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des tanins. **F.n-B/E.Ac** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des tanins

Il ressort de cette partie d'étude que :

- Les extraits obtenus par macération sont plus actifs que ceux obtenus par reflux.
- La partie aérienne présente une meilleure activité par rapport à la partie racine.
- Les extraits bruts présentent une meilleure activité par rapport aux différentes fractions.
- Les extraits testés présentent des CMI variables vis-à-vis de toutes les souches testées, mais sont beaucoup plus actifs sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif.
- Les CMI obtenues varient de 1,04 à 50 mg/mL vis-à-vis des souches testées.
- Les extraits eau/méthanol et eau/acétone sont les plus actifs.
- Les souches les plus sensibles vis-à-vis de l'ensemble des extraits testés sont, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* MRSA*, Bacillus cereus, Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis, Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella typhimurium***.**

### 3.4. Évaluation de l'activité antifongique vis-à-vis des levures

#### 3.4.1. Méthode de diffusion sur gélose

Cette évaluation est effectuée par la méthode de diffusion sur milieu solide vis-à-vis de trois souches de référence de *Candida albicans*.

Les diamètres des zones d'inhibition mesurés sont regroupés dans les tableaux **N°36, 37, 38, 39, 40** et **41.**

Le DMSO ne montre aucun effet sur la croissance des levures.

- **Extraits bruts**

Les résultats des tests qualitatifs de l'activité antifongique des extraits de la partie aérienne et racine de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération sont regroupés dans les **tableaux N°36** et **37** respectivement.

Nous constatons que :

- L'extrait le plus actif est l'extrait hydrométhanolique des racines avec un diamètre d'inhibition de 11 mm vis-à-vis de *Candida albicans* ATCC 10231.
- L'extrait hydroacétonique de la partie aérienne présente des diamètres d'inhibition de 9, 10 et 9 mm vis-à-vis de *Candida albicans* ATCC 26790, *Candida albicans* IP 444 et *Candida albicans* ATCC10231 respectivement.
- Les extraits aqueux et chloroformique des deux parties de la plante ne montrent aucune activité antifongique vis-à-vis des trois souches de levures testées.
- L'extrait hydroacétonique des racines n'a aucune activité vis-à-vis des levures testées.

**Tableau N°36** : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération vis-à-vis des différentes souches de *Candida albicans*.

| Souches / Extraits | AQ | CL | E/MeOH | E/Ac | AmB |
|---|---|---|---|---|---|
| *Candida albicans* ATCC10231 | NA | NA | **8** | **9** | 32 |
| *Candida albicans* IP 444 | NA | NA | NA | **10** | 30 |
| *Candida albicans* ATCC 26790 | NA | NA | **7** | **9** | 30 |

**AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique. **AmB** : amphotéricine B. **NA** : activité nulle.

**Tableau N°37 :** Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits de la partie racine de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération vis-à-vis des différentes souches de *Candida albicans*.

| Souches / Extraits | AQ | CL | E/MeOH | E/Ac | AmB |
|---|---|---|---|---|---|
| *Candida albicans* ATCC10231 | NA | **7** | **11** | NA | 32 |
| *Candida albicans* IP 444 | NA | NA | 8 | NA | 30 |
| *Candida albicans* ATCC 26790 | NA | NA | 7 | NA | 30 |

**AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique. **AmB** : amphotéricine B. **NA** : activité nulle.

Les résultats des tests préliminaires de l'évaluation de l'activité antifongique des extraits de la partie aérienne et racine de *Pituranthos scoparius* obtenus par extraction sous reflux sont regroupés dans les **tableaux N°38** et **39**.

Nous remarquons que :

- L'extrait eau/méthanol de la partie racine et aérienne présente une activité antifongique avec des diamètres d'inhibition respectifs de 11 et 10 mm vis-à-vis de *Candida albicans* ATCC10231.
- L'extrait aqueux et chloroformique des deux parties de la plante ne présentent aucune activité envers les levures testées.

**Tableau N°38** : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* obtenus par reflux vis-à-vis des différentes souches de *Candida albicans*.

| Souches / Extraits | AQ | CL | E/MeOH | E/Ac | AmB |
|---|---|---|---|---|---|
| *Candida albicans* ATCC10231 | NA | 7 | **10** | **8** | 32 |
| *Candida albicans* IP 444 | NA | NA | 7 | 7 | 30 |
| *Candida albicans* ATCC 26790 | NA | NA | **8** | 7 | 30 |

**AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique.**AmB** : amphotéricine B. **NA** : activité nulle.

**Tableau N°39** : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits de la partie racine de *Pituranthos scoparius* obtenus par reflux vis-à-vis des différentes souches de *Candida albicans*.

| Souches / Extraits | AQ | CL | E/MeOH | E/Ac | AmB |
|---|---|---|---|---|---|
| *Candida albicans* ATCC10231 | NA | NA | **11** | NA | 32 |
| *Candida albicans* IP 444 | NA | NA | **8** | **9** | 30 |
| *Candida albicans* ATCC 26790 | NA | NA | 7 | 7 | 30 |

**AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique. **AmB** : amphotéricine B. **NA** : activité nulle.

- **Extraits spécifiques**

Les résultats relatifs à l'activité antifongique des fractions des deux parties de *Pituranthos scoparius* sont englobés dans les **tableaux N°40** et **41**.

Nous constatons que :

- La fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes des racines semble être la plus efficace avec un diamètre de 9 et 8 mm vis-à-vis de *Candida albicans* ATCC 26790 et *Candida albicans* ATCC10231 respectivement.
- Dans les fractions de l'extrait enrichi des tanins, la fraction butanolique des racines est la plus active avec un diamètre d'inhibition de 15 mm vis-à-vis de *Candida albicans* IP 444, suivie par la même fraction de la partie aérienne avec un diamètre de 10 mm vis-à-vis de la même souche.

**Tableau N°40** : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des différentes fractions de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* vis-à-vis des différentes souches de *Candida albicans*.

| **Souches** / **Extraits** | **F.Act/ E.MeOH** | **F.n-B/ E.MeOH** | **F.Act/E.Ac** | **F.n-B/E.Ac** | **AmB** |
|---|---|---|---|---|---|
| *Candida albicans* ATCC10231 | 7 | 6 | 9 | **9** | 32 |
| *Candida albicans* IP 444 | 8 | 8 | 9 | **10** | 30 |
| *Candida albicans* ATCC26790 | 8 | 6 | 8 | 8 | 30 |

**F.Act/E.MeOH** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.n-B/E.MeOH** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.Act/E.Ac** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des tanins
**F.n-B/E.Ac** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des tanins. **AmB** : amphotéricine B.

**Tableau N°41** : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des différentes fractions de la partie racine de *Pituranthos scoparius* vis-à-vis des différentes souches de *Candida albicans*.

| **Souches** / **Extraits** | **F.Act/ E.MeOH** | **F.n-B/ E.MeOH** | **F.Act/E.Ac** | **F.n-B/E.Ac** | **AmB** |
|---|---|---|---|---|---|
| *Candida albicans* ATCC10231 | 8 | 7 | 8 | 7 | 32 |
| *Candida albicans* IP 444 | 7 | 8 | NA | **15** | 30 |
| *Candida albicans* ATCC26790 | **9** | NA | NA | NA | 30 |

**F.Act/E.MeOH** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.n-B/E.MeOH** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.Act/E.Ac** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des tanins
**F.n-B/E.Ac** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des tanins. **AmB** : amphotéricine B.

### 3.4.2. Méthode de microdilution en milieu liquide

D'après les résultats obtenus par la méthode des disques, nous pouvons déduire que cette plante ne présente pas un effet antifongique vis-à-vis des souches de *Candida albicans* testées. Ces résultats sont confirmés par le test de microdilution en milieu liquide qui a révélé que les CMI obtenues sont égales ou supérieure à 50 mg/mL.

### 3.5. Évaluation de l'activité antifongique vis-à-vis des moisissures

- **Extraits bruts**

Les résultats de criblage de l'activité antifongique des extraits obtenus par macération de la partie aérienne et racine vis-à-vis des espèces de moisissures, *Aspergillus flavus* et *Fusarium oxysporum* sont regroupés dans les **tableaux N°42** et **43**.

Nous remarquons que :

- Les pourcentages d'inhibition sont compris entre 64,7 et 81,18 %.
- La meilleure activité antifongique est obtenue avec l'extrait chloroformique de la partie aérienne et l'extrait hydrométhanolique des racines vis-à-vis d'*Aspergillus flavus* (81,18 %).
- Le DMSO ne montre aucun effet sur la croissance mycélienne des moisissures.

**Tableau N°42** : Pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération.

| Souches / Extraits | AQ | E/MeOH | E/Ac | CL |
|---|---|---|---|---|
| *Aspergillus flavus* MNHN 994294 | 66,7±0,28 | 78,47±0,28 | 70,59±0,5 | 81,18±0,14 |
| *Fusarium oxysporum* MNHN 963917 | 67,65±0,35 | 73,53±0,35 | 70,59±0 | 76,47±0 |
| **AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique. | | | | |

**Tableau N°43** : Pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne des extraits de la partie racine de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération.

| Souches / Extraits | AQ | E/MeOH | E/Ac | CL |
|---|---|---|---|---|
| *Aspergillus flavus* MNHN 994294 | 79,65±0,25 | 81,18±0,14 | 77,29±0,11 | 72,22±0,1 |
| *Fusarium oxysporum* MNHN 963917 | 70,59±0 | 64,7±0 | 73,53±0,35 | 70,47±0,35 |
| **AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique. | | | | |

Les résultats d'inhibition de la croissance mycélienne des différents extraits obtenus par reflux des deux parties de la plante, sont regroupés dans les **tableaux N°44** et **45**.

Nous constatons que :

- Les pourcentages d'inhibition sont compris entre 58,82 et 83,35 %.
- L'extrait eau/acétone et aqueux de la partie aérienne montrent les pourcentages d'inhibition les plus élevés avec 83,35 et 81,18 % respectivement.
- Cependant, les autres extraits montrent une inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 50%.

**Tableau N°44** : Pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* obtenus par reflux.

| **Souches** / **Extraits** | **AQ** | **E/MeOH** | **E/Ac** | **CL** |
|---|---|---|---|---|
| *Aspergillus flavus* MNHN 994294 | 81,18±0,14 | 76,47±0,70 | 83,53±0,14 | 78,23±0,21 |
| *Fusarium oxysporum* MNHN 963917 | 67,65±0,35 | 79,41±0,35 | 73,53±0,35 | 67,65±0,35 |
| **AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique. | | | | |

**Tableau N°45** : Pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne des extraits de la partie racine de *Pituranthos scoparius* obtenus par reflux.

| **Souches** / **Extraits** | **AQ** | **E/MeOH** | **E/Ac** | **CL** |
|---|---|---|---|---|
| *Aspergillus flavus* MNHN *994294* | 73,29±0,25 | 80,35±0,28 | 77,65±0,1 | 71,12±0,35 |
| *Fusarium oxysporum* MNHN *963917* | 58,82±0,70 | 73,53±0,35 | 72,94±0,98 | 65,76±0,14 |
| **AQ** : extrait aqueux. **E/MeOH** : extrait hydrométhanolique. **E/Ac** : extrait hydroacétonique. **CL** : extrait chloroformique. | | | | |

- **Extraits spécifiques**

Les différents résultats d'inhibition de la croissance mycélienne des fractions des deux parties de la plante, sont regroupés dans les **tableaux N°46** et **47**.

Les pourcentages d'inhibition pour les différentes fractions sont compris entre 57,06 et 82,35% vis-à-vis des moisissures testées.

**Tableau N°46** : Pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne des différentes fractions de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius*.

| **Souches** / **Extraits** | **F.Act/ E.MeOH** | **F.n-B/ E.MeOH** | **F.Act/E.Ac** | **F.n-B/ E.Ac** |
|---|---|---|---|---|
| *Aspergillus flavus* MNHN 994294 | 71,02±0,25 | 72,59±0,28 | 72,58±0,57 | 80,47±0,57 |
| *Fusarium oxysporum* MNHN 963917 | 60,11±0,71 | 82,35±0,70 | 73,53±1,06 | 57,06±0,49 |

**F.Act/E.MeOH** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.n-B/E.MeOH** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.Act/E.Ac** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des tanins
**F.n-B/E.Ac** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des tanins

**Tableau N°47** : Pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne des différentes fractions de la partie racine de *Pituranthos scoparius*.

| **Souches** / **Extraits** | **F.Act/ E.MeOH** | **F.n-B/ E.MeOH** | **F.Act/E.Ac** | **F.n-B/ E.Ac** |
|---|---|---|---|---|
| *Aspergillus flavus* MNHN 994294 | 73,76±0,40 | 75,65±0,45 | 70,81±0,23 | 79,41±0,57 |
| *Fusarium oxysporum* MNHN 963917 | 58,82±0 | 67,65±0,35 | 69,53±1,1 | 57,34±0,65 |

**F.Act/E.MeOH** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.n-B/E.MeOH** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des flavonoïdes
**F.Act/E.Ac** : fraction acétate d'éthyle de l'extrait enrichi des tanins
**F.n-B/E.Ac** : fraction n-butanol de l'extrait enrichi des tanins

D'après l'analyse de l'ensemble des résultats obtenus dans cette partie de l'étude, nous constatons que :

- *Pituranthos scoparius* ne présente pas une bonne activité antifongique vis-à-vis des trois souches de *Candida albicans* testées.
- La fraction butanolique de l'extrait enrichi des tanins des racines montre l'activité la plus élevée vis-à-vis de *Candida albicans* IP 444 avec un diamètre d'inhibition de 15mm.
- Les extraits testés ont montré par contre une activité antifongique plus importante vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus*.
- Les pourcentages d'inhibition sont compris entre 57,06 et 83,53 %
- *Aspergillus flavus* s'est montré plus sensible à nos extraits que *Fusarium oxysporum.*

**4. Évaluation de l'activité hémolytique des extraits de *Pituranthos scoparius* vis-à-vis des globules rouges humains**

Dans cette partie de notre travail, les extraits qui ont montré les CMI et les $IC_{50}$ les plus intéressantes, ont fait l'objet de l'évaluation *in vitro* de leur activité hémolytique vis-à-vis des globules rouges humains.

Les **figures N°15** et **16** représentent l'effet des différentes concentrations allant de 0,5 à 6 mg/mL des extraits aqueux, hydrométhanolique et hydroacétonique de la partie aérienne obtenus par les deux méthodes d'extraction, sur la fuite de l'hémoglobine intracellulaire des globules rouges. Afin de mieux comprendre le comportement de ces composés au cours du temps, l'effet cytotoxique est suivi pendant 90 minutes à 37°C.

Nous constatons qu'aucune lyse des globules rouges n'est observée en présence des extraits aqueux à une concentration finale allant de 0,5 à 6 mg/mL jusqu'à 90 minutes d'incubation. Ces concentrations restent supérieures aux $IC_{50}$ obtenus.

Les résultats représentés dans la **figure N°15**, montrent une absence d'effet hémolytique des extraits vis-à-vis des globules rouges à une concentration finale de 0,5 mg/mL durant les 90 minutes de suivi.

En outre, nous remarquons une augmentation de la fuite des globules rouges à partir de la concentration de1 mg/mL pour l'extrait hydroacétonique obtenu par macération pour atteindre 66,2 % à 90 minutes d'incubation **(Figure N°15 (B))**.

À une concentration finale de 2 mg/mL, le taux d'hémolyse augmente, pour atteindre 72,88 % pour l'extrait hydroacétonique obtenu par macération, suivi par les extraits eau/méthanol et eau/acétone obtenus par reflux avec des pourcentages respectifs de 21,02 % ; 20,14 % **(Figure N°15 (C))**.

Nous remarquons que l'extrait eau/acétone obtenu par macération à une concentration finale de 6 mg/mL provoque le taux maximal d'hémolyse (80 %) **(Figure N°15 (G))**. En revanche, les extraits ont montré une activité hémolytique modérée vis-à-vis des globules rouges mais à des niveaux différents comparativement aux résultats obtenus avec l'eau distillée.

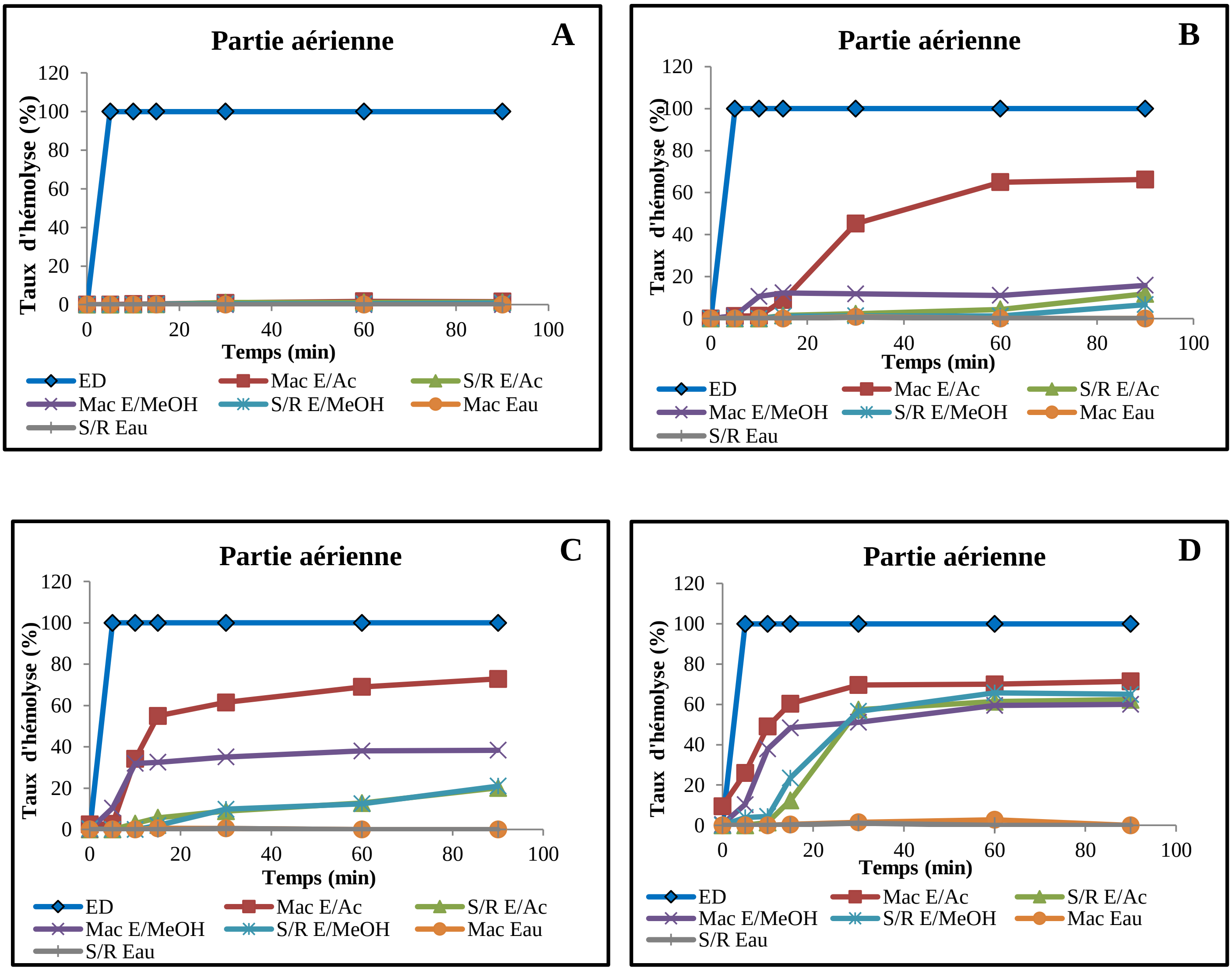



**Figure N°15 :** Effet des concentrations 0,5 mg/mL **(A)** ; 1 mg/mL **(B)** ; 2 mg/mL **(C)** ; 3mg/mL **(D)** des extraits de *Pituranthos scoparius* sur la fuite de l'hémoglobine chez les globules rouges humains.

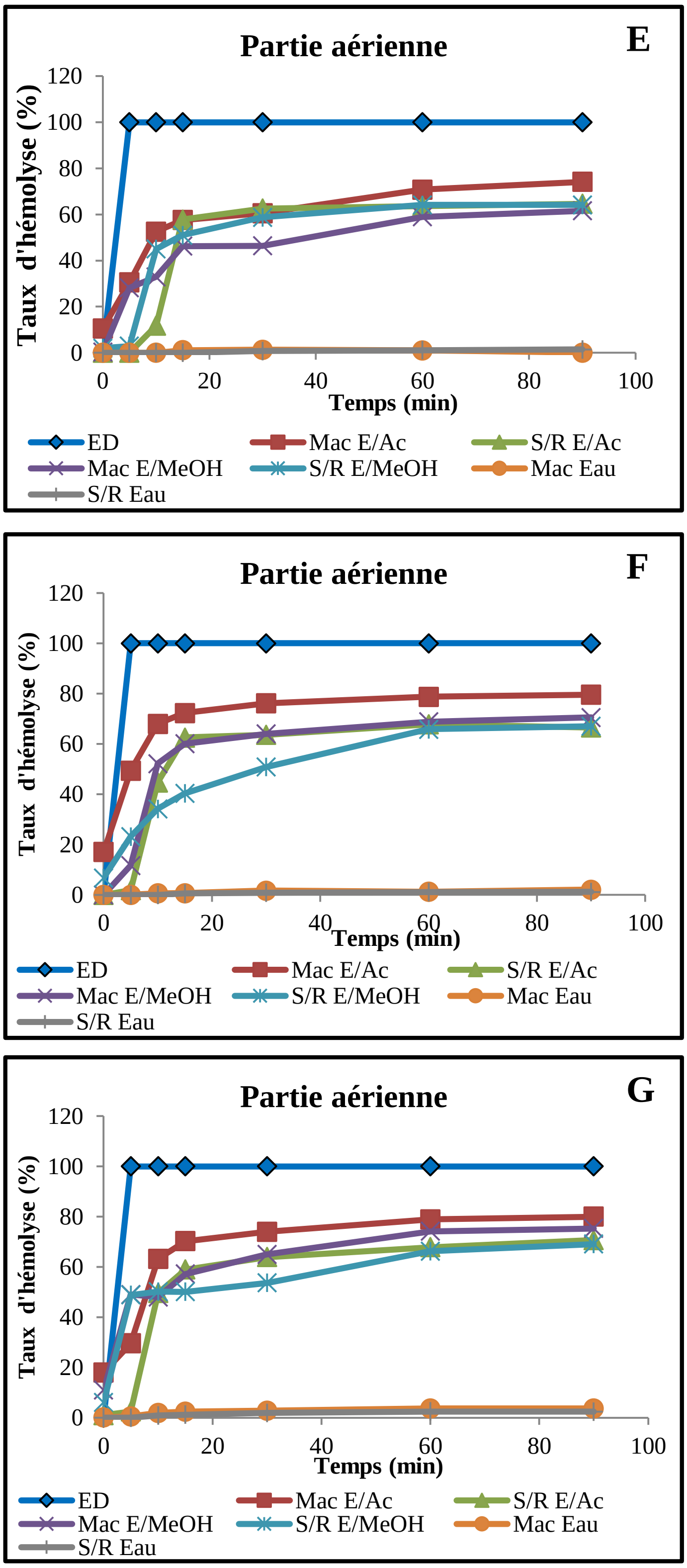



**Figure N°16 :** Effet des concentrations 4 mg/mL **(E)** ; 5 mg/mL **(F)** ; 6 mg/mL **(G)** des extraits de *Pituranthos scoparius* sur la fuite de l'hémoglobine chez les globules rouges humains.

Il ressort de cette partie d'étude que :

- Les extraits obtenus par la méthode d'extraction sous reflux sont moins toxiques que ceux obtenus par macération.
- Aucune fuite de l'hémoglobine des globules rouges n'est observée en présence des extraits aqueux, dans l'intervalle de concentration allant de 0,5 à 6 mg/mL, jusqu'à 90 minutes d'incubation.
- À une concentration finale de 0,5 mg/mL, aucune lyse n'est observée pour tous les extraits testés.
- L'extrait qui a induit la fuite d'hémoglobine la plus importante est l'extrait eau/acétone obtenu par macération.

# *Quatrième partie*

# *Discussion générale*

La flore Algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% endémiques, reste très peu explorée sur le plan phytochimique et pharmacologique **(Dupont et Guignard, 2007)**.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de quelques activités biologiques et de la phytochimie de *Pituranthos scoparius*, plante du Sahara Algérien.

Le choix de cette plante a été basé sur des données ethnopharmacologiques obtenues auprès de la population de la région de Béchar (Sud-Ouest Algérien). En effet, l'enquête effectuée auprès de la population autochtone montre que cette plante est bien connue et utilisée pour le traitement de nombreuses maladies dont, le traitement des infections respiratoires (toux, rhume, grippe), urinaires, rhumatismale, troubles digestifs, rougeole, rubéole et eczéma. Elle est utilisée aussi, dans les soins post-partum : spasmes et douleurs.

Nos résultats vont dans le même sens que ceux de **[(Boukef, 1986) ; (Didi et Zabeirou, 2003) ; (Hammiche et Maiza, 2006) ; (Boudjelal *et al.*, 2013)]** qui ont rapporté que *Pituranthos scoparius* est également utilisée dans d'autres régions du Sahara Algérien comme remède pour soigner pratiquement les mêmes maladies. Cette plante fait donc partie intégrante de la pharmacopée traditionnelle Algérienne.

Afin de pouvoir évaluer ses activités antimicrobiennes et antioxydantes, *Pituranthos scoparius* a été soumise à des extractions. Des extraits aqueux, organiques ou mixtes de différentes parties de la plante (aérienne et racine) ont été préparé afin d'extraire leurs constituants selon leurs propriétés physico-chimiques : polarité, solubilité dans le solvant.

La quantité et la composition en métabolites secondaires d'un extrait, peuvent être influencée par plusieurs facteurs tel que le mode et la durée d'extraction, la température, la nature du solvant ainsi que sa polarité qui permet de solubiliser et extraire les composés de polarité similaire **[(Green, 2004) ; (Ncube *et al.*, 2008)]**.

La méthode d'extraction doit permettre l'extraction complète des composés d'intérêt et doit éviter leur modification chimique. L'eau, les mélanges aqueux de l'éthanol, du méthanol et de l'acétone sont les plus couramment utilisés pour l'extraction **(Turkmen *et al.*, 2007)**.

Dans cette étude, nous avons adopté deux modes d'extractions, la macération pendant 24 heures et l'extraction sous reflux pendant 3 heures à 70°C.

Les solvants utilisés ont une polarité différente et sont classés du moins polaire vers le plus polaire (chloroforme, méthanol, acétone, eau). Cette différence de polarité permet d'extraire une large gamme de métabolites secondaires de la plante **(Green, 2004)**. En plus, des extractions plus spécifiques ciblant plus particulièrement les flavonoïdes et les tanins sont appliquées, en utilisant des solvants appropriés tel que l'acétate d'éthyle et le n-butanol pour l'extraction liquide-liquide en se basant sur la différence de leur densité.

Le choix d'un solvant pour l'extraction de la matière végétale, doit répondre à un certains nombres de critères dont la faible toxicité, la facilité de l'évaporation à basse température. Le choix dépend également des composés ciblés à extraire **[(Hughes, 2002) ; (Ncube *et al*., 2008)]**.

Il a été rapporté par de nombreux auteurs que les solvants organiques extraient plus de composés antimicrobiens par rapport à l'eau. L'efficacité des extraits aqueux utilisés traditionnellement peut être due à un effet indirect, stimulant le système immunitaire de l'hôte plutôt que de tuer les agents pathogènes **[(Rabe et Van Staden, 1997) ; (Kotze et Eloff, 2002)]**.

En pratique, lors des tests préliminaires d'évaluation de l'activité antimicrobienne des plantes, il est généralement recommandé de commencer par des extraits bruts : aqueux, alcoolique ou hydroalcoolique, contenant une large gamme de composés et de structure diverses. Ils peuvent être suivis par leur fractionnement par des solvants organiques ou par chromatographie afin d'obtenir des fractions enrichies en composés de même familles, ou en des composés relativement purs [**(Parekh *et al*., 2005) ; (Eloff *et al*., 2011)]**.

Généralement, presque tous les composants actifs identifiés à partir de plantes vis-à-vis des micro-organismes ces dernières décennies sont des composés organiques aromatiques, ils sont le plus souvent obtenus à l'aide des solvants les plus recommandés dont l'éthanol et le méthanol. Ils sont utilisés dans les extractions initiales dans environ 35% de cas d'études tel qu'il est rapporté dans la littérature **[(Lourens *et al*., 2004); (Parekh *et al*., 2006); (Rojas *et al*., 2006)]**. En outre, de nombreuses études évitent l'utilisation de l'extrait aqueux comme solvant primaire **(Cowan, 1999)**.

Dans une étude comparative, entre différents solvants utilisés dans l'extraction de la matière végétale, le chloroforme s'est révélé être un bon solvant pour l'extraction des composés actifs biologiques non polaires **(Härmälä *et al*., 1992)**. Par ailleurs, **Eloff en 2000 ; Kotze et Eloff, 2002** ainsi que **Eloff *et al*., 2007** ont constaté que l'acétone était le meilleur solvant comme agent d'extraction en raison de sa capacité à extraire de nombreux composés à large gamme de polarités et de structures diversifiées.

Le méthanol est recommandé et fréquemment employé pour l'extraction des composés phénoliques. Le méthanol aqueux est deux fois plus efficace que le méthanol pur pour l'extraction des composés phénoliques **[(Vuorela, 2005) ; (Falleh *et al*., 2008)]**.

En **2004**, **Green** a montré que la proportion 10/1 (v/p) (solvant/matière végétale) est idéale pour les extractions de la matière végétale. La méthode d'extraction qui a été largement adoptée par les chercheurs est l'homogénéisation de tissus végétaux dans un solvant et laissés macérer pendant 24 heures **[(Taylor *et al*., 1996) ; (Basri et Fan, 2005) ; (Parekh *et al*., 2005)]**. Une autre méthode courante consiste à une extraction plus exhaustive de la matière végétale par des solvants à polarité croissante, du non polaire (hexane) au plus polaire (méthanol) pour assurer l'extraction d'une large gamme de composés de structure variée **(Green, 2004)**.

En outre, de nombreux scientifiques s'accordent à reconnaitre que l'efficacité d'un extrait repose sur la complexité de sa composition dont les constituants agissent en synergie, l'effet observé serait dû à la conjugaison de l'action de chacun d'eux plutôt que l'action d'un seul composé actif **[(Van Wyk et Wink, 2004) ; (Lewis et Ausubel, 2006)]**.

L'examen phytochimique préliminaire des extraits de *Pituranthos scoparius* a révélé la présence des tanins, coumarines, composés réducteurs et terpenoïdes en quantité variable. Tandis qu'une absence totale des saponosides et des anthraquinones a été notée.

Il est connu que la plante *Pituranthos scoparius* contient des coumarines et en particulier les furocoumarines **(Nielsen, 1970)**, qui sont responsables de nombreuses activités biologiques observées chez les espèces de la même famille telle que *Pituranthos triradiatus* **(Novak *et al*., 1966)**.

Actuellement, parmi l'ensemble des métabolites secondaires, les composés phénoliques représentés majoritairement par les tanins et les flavonoïdes, suscitent un grand intérêt scientifique, car ils sont considérés comme de puissants antioxydants, antibactériens, antifongiques, anti-inflammatoires et anticancéreux **[(Coskun *et al*., 2005) ; (Oliver Chen et Blumberg, 2008)]**. De ce fait, il nous a semblé intéressant de déterminer dans nos extraits le taux de polyphénols et de flavonoïdes totaux.

L'analyse quantitative de l'ensemble des extraits a montré que la fraction acétate d'éthyle aussi bien de la partie aérienne que les racines de la plante, est la plus riche en polyphénols, le taux de flavonoïdes étant faible, ceci nous permet de constater que les polyphénols sont représentés majoritairement par les tanins.

Comparativement à une autre étude réalisée sur la partie aérienne de *Pituranthos chloranthus* espèce de la même famille de *Pituranthos scoparius*, récoltée du Sud Tunisien, montre que les taux de polyphénols dans l'extrait acétate d'éthyle, l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique sont de l'ordre de 3,80 ; 3,72 ; 3,14 mg équivalent pyrogallol/gE respectivement. Les teneurs en flavonoïdes pour les mêmes extraits sont de l'ordre de 0,41 ; 0,38 ; 0,19 mg équivalent rutine/gE respectivement **(Bouaziz *et al*., 2009)**. Ces valeurs se situent dans le même ordre de grandeur que celles que nous avons obtenues, ce qui confirme l'aspect chimiotaxonomique, selon lequel, des espèces d'une même famille botanique possèdent une composition chimique similaire.

La distribution et la teneur des métabolites secondaires dans les différents organes de la plante peuvent changer pendant son développement. Ces changements peuvent être liés aux conditions climatiques extrêmes qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires. De plus, la période, le lieu de récolte, les conditions de stockage **[(Podsędek, 2007) ; (Falleh *et al*., 2008)]**, et les méthodes d'extraction influencent grandement sur la composition de l'extrait **[(Sağdıç et Özcan, 2003) ; (Moreira *et al*., 2005) ; (Celiktas *et al*., 2007) ; (Turkmen *et al*., 2007)]**.

Dans le but de rechercher de l'activité antioxydante, nous avons utilisé deux méthodes, la technique de FRAP et la technique de piégeage de radical libre DPPH.

L'analyse de l'effet antiradicalaire des extraits sur le DPPH montre que l'extrait aqueux de la partie aérienne présente la meilleure activité antiradicalaire avec une $IC_{50}$ de 45 µg/mL.

Les deux fractions, acétate d'éthyle et n-butanol aussi bien de la partie aérienne que les racines de *Pituranthos scoparius* sont douées de propriétés antioxydantes élevées comparativement à d'autres extraits. De plus, l'activité de l'extrait butanolique est supérieure à celle de l'extrait acétate d'éthyle, cela a été montré par d'autres études qui ont montré que l'augmentation de l'activité dépend de la polarité des solvants **[(Ardestani et Yazdanparast, 2007) ; (Matanjun *et al*., 2008) ; (Atmani *et al*., 2009) ; (Li *et al*., 2009)]**.

L'activité antioxydante de polyphénols plus particulièrement les flavonoïdes dépend généralement de leurs structures chimiques, de leur distribution et du nombre de groupements hydroxyles **(Popovici *et al*., 2009)**. Selon **Turkmen et ses collaborateurs en 2007,** les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leurs structures chimiques idéales.

L'effet scavanger des radicaux libres est essentiellement lié à la configuration des groupements 3 et 4- orthodihydroxy sur le cycle B et le groupement 4-carbonyle sur le cycle C. Le groupement 3-OH et/ou 5-OH sur le cycle C est très intéressant pour l'effet antioxydant. L'absence de la structure O-dihydroxy sur le cycle B donne une structure catéchol sur le cycle A qui peut largement compenser l'activité antioxydante des flavonoïdes [**(Pyo *et al*., 2004) ; (Wojdylo *et al*., 2007) ; (Benariba *et al*., 2013)]**.

Dans les extraits de plantes outre les polyphénols plusieurs familles de métabolites secondaires peuvent présenter une activité antioxydante qui par leur effet synergique peuvent influencer l'activité globale de ces extraits **(Liu, 2004)**.

L'analyse de la capacité des extraits à réduire le fer par la méthode de FRAP a révélé que la partie racine a une grande activité antioxydante par rapport à la partie aérienne.

Une étude récente faite sur cette capacité de réduction du fer par les polyphénols des plantes a indiqué que le noyau catéchol est la seule structure qui est associée positivement au pouvoir réducteur, cette structure augmente le pouvoir réducteur d'un composé de 36% par rapport à

un autre qui n'en contient pas. Il a été suggéré que cette activité est due à la participation des groupements –OH liés au noyau catéchol **(Degraft-Johnson *et al*., 2007)**.

L'activité des groupements –OH du catéchol peut être modulée par une variété de substituants sur le noyau aromatique. Par exemple, la substitution sur le noyau phénolique d'un groupement donneur d'électron (-$CH_3$, -$CH_2$-$CH_3$, ou d'autre substituant aliphatiques) promouvrait à des réactions dans lesquelles les noyaux phénoliques acquièrent une tendance à donner des électrons via un groupement –OH, et finalement augmentent leur capacité de réagir comme des réducteurs. D'autre part, la double liaison dans le substituant aliphatique conjuguée avec le noyau aromatique diminue la réactivité du groupement –OH **(Degraft-Johnson *et al*., 2007)**.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *Pituranthos scoparius* a été testée vis-à-vis de quatorze souches bactériennes, dont six à Gram positif et huit à Gram négatif, trois levures et deux champignons filamenteux.

Les différents extraits ont été évalués *in vitro* par deux méthodes, une qualitative : la diffusion sur gélose, l'autre est quantitative : la microdilution en milieu liquide pour la détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides.

Nos résultats montrent que les différentes souches de bactéries ou champignons présentent des degrés variables de sensibilité vis-à-vis des différents extraits de *Pituranthos scoparius* testés. Cette différence peut être attribuée à plusieurs facteurs dont, la composition de l'extrait en métabolites secondaires, leur nature et leurs propriétés physico-chimiques d'une part et de la physiologie et structure du système membranaire des micro-organismes ciblés d'autre part.

Parmi les extraits qui ont montré un large spectre d'action vis-à-vis des souches de micro-organismes, figurent les extraits bruts eau/méthanol et eau/acétone, car ils ont une composition plus diversifiée en métabolites secondaires où la majorité des familles sont représentées. Les autres ont une action plus limitée ou nulle tel que l'extrait aqueux.

Nous constatons que l'extrait hydroacétonique de la partie aérienne est le plus efficace avec une CMI observée égale à 1,04 mg/mL, suivi de l'extrait hydrométhanolique des deux parties de la plante obtenu par les deux méthodes d'extraction avec des CMI de 1,56 et 6,25 mg/mL vis-à-vis des différentes souches bactériennes testées. La fraction acétate d'éthyle des deux parties de la plante a montré une activité moyenne vis-à-vis des souches testées.

En comparant nos résultats avec ceux obtenus par **Boutaghane *et al*. (2004)** qui ont évalué l'activité antibactérienne des huiles essentielles des tiges et graines de *Pituranthos scoparius* provenant de la région de Ghardaïa. Les résultats montrent que les huiles des graines présentent une activité plus importante que celle des tiges avec des CMI qui vont de 0,156 à 320 mg/mL vis-à-vis des bactéries testées. Tandis que les CMI des huiles essentielles des tiges varient entre 1 et 256 mg/mL vis-à-vis des différentes souches. Les valeurs de CMI trouvées, montrent que les extraits naturels sont aussi efficaces que les huiles essentielles.

L'activité antibactérienne des substances actives d'origine végétale dépend surtout du type de bactéries, Gram positif ou Gram négatif **[(Cowan, 1999) ; (Liu *et al*., 2004) ; (Bekhechi *et al*., 2008)]**. En effet, l'organisation architecturale de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif est riche en protéines, cette structure est moins complexe que celle des bactéries à Gram négatif, qui est surtout assemblée en lipopolysaccharides (LPS), la membrane extérieure de ces dernières constitue une barrière de perméabilité efficace. Le LPS, grâce à ses charges négatives de surface, empêche la diffusion des molécules hydrophobes et les protéines excluent le passage des molécules hydrophiles de poids moléculaire élevé. Alors que les bactéries à Gram positif sont moins protégées contre les agents antibactériens **(Hogan et Kolter, 2002**).

Cette différence structurale rend les bactéries à Gram positif plus sensibles à l'action de divers composés naturels tels que les huiles essentielles et les extraits de plantes **(Kalemba et Kunicka, 2003)**. Nos résultats nous conduisent aux mêmes observations.

Les extraits naturels de plantes sont d'ailleurs reconnus pour être 1000 fois moins efficaces sur les bactéries à Gram négatif que sur les bactéries à Gram positif **(Lomovskaya *et al*., 2007)**.

Naturellement, les plantes produisent une multitude de substances chimiques pour se défendre et résister aux pathogènes microbiens et à d'autres prédateurs. De plus, certaines substances sont utilisées comme signaux afin d'attirer les organismes utiles. Ces composés ont des structures chimiques très diversifiés et variés, les plus connus sont les terpenoïdes, les saponines, les composés phénoliques, les alcaloïdes, les glucosinolates et les indoles… **(Cooper *et al*., 1996)**. Ils sont soit constitutifs, appelés phytoanticipines présents dans les tissus de la plante ou inductibles appelés phytoalexines produits en réaction à une attaque

d'agents pathogènes **[(Smith, 1996) ; (Wittstock et Gershenzon, 2002) ; (Bonanomi *et al*., 2009)]**.

Les variations dans la composition et dans la structure chimique de ces composés conduisent à des effets aux sites d'action différents dans leur action antimicrobienne **(Savoia, 2012)**.

Le mécanisme d'action des composés naturels qui leur permet d'exercer un effet antimicrobien dépend de leur nature, de leurs propriétés physico-chimiques et de leur configuration structurale. Il existe différents types de mécanismes, certains sont plus spécifiques que d'autres, exerçant une action ciblée sur un site bien déterminé, tel que les cyanures d'hydrogène issus de glycosides cyanogènes qui inhibent la respiration cellulaire **(Jones *et al*., 2000)**. Tandis que les saponines exercent leur activité antimicrobienne en formant un complexe avec les stérols présents dans la membrane des micro-organismes, altérant aussi leur intégrité structurale et perméabilité **(Osbourn, 1996)**. En conséquence de l'altération membranaire, d'autres processus cellulaires tels que, la production d'énergie, la synthèse d'acide nucléique et de protéines peuvent être indirectement affectés, ce qui entraine la mort cellulaire **(Amin *et al*., 1988)**.

Les composés phénoliques possèdent de grandes variations structurales sont l'un des groupes les plus abondants et les plus diversifiés de métabolites secondaires **[(Lai et Roy, 2004) ; (Ciocan et Bara, 2007)]**. L'élément structural de base est un noyau benzoïque portant au moins un groupement hydroxyle libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...). Selon le nombre d'unités phénoliques présentes, ils sont classés en composés phénoliques simples et en polyphénols **[(Bruneton, 1999) ; (Macheix *et al*., 2005)]**.

Parmi les composés phénoliques les plus importants, les flavonoïdes, possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbone, constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) reliés entre eux par une chaîne en C3 formant ainsi l'hétérocycle (C) **(Erdman *et al*., 2007)**. Ils sont connus pour être synthétisé par la plante en réponse à une infection microbienne **(Dixon *et al*., 1983)**.

Leur activité antimicrobienne serait probablement due à leur aptitude à se complexer avec les protéines extracellulaires solubles. Parmi les flavonoïdes, les plus lipophiles provoquent la rupture des membranes cellulaires, ce qui induit la fuite des constituants de la cellule

**(*Tsuchiya et al.*, 1996)**. Par ailleurs, ils sont capables d'inhiber l'ADN gyrase **(Cushnie et Lamb, 2005)**.

Le mode d'action des tanins peut être lié à leur aptitude d'inactiver les enzymes microbiennes. Ils ont également la capacité de se complexer avec des polysaccharides **(Ya *et al*., 1989)**. **Scalbert (1991)** et **Jones *et al*., 1994** ont recherché les propriétés antimicrobiennes des tanins. D'après leurs résultats, les tanins peuvent être toxiques pour les champignons filamenteux, les levures et les bactéries. De plus, les tanins condensés sont connus par leur potentiel à se lier à la paroi cellulaire des bactéries en empêchant leur croissance.

Aussi, le potentiel antimicrobien des quinones est très large. Ils ont une structure constituée d'un cycle aromatique avec deux groupements cétones **(Schmidt, 1988)**. Les quinones sont capables de se complexer de manière irréversible avec des acides aminés nucléophiles dans les protéines, ce qui conduit souvent à une inactivation des protéines et une perte de leurs fonctions. Pour cette raison, l'éventail possible des effets antimicrobiens des quinones est large. Leurs cibles potentielles dans la cellule microbienne pourront être les adhésines exposées à la surface, les polypeptides de la paroi cellulaire, les enzymes liées à la membrane, en rendant leurs substrats inutilisables **[(Stern *et al*., 1996) ; (Cowan, 1999)]**.

L'activité antimicrobienne des triterpènes et stérols peut être liée à des composants lipophiles d'extraits de plantes. Ces composants augmentent la perméabilité membranaire et la perte de composants cellulaires en induisant à la mort cellulaire **[(Kim *et al*., 1995) ; (Bagamboula *et al*., 2004)]**.

**Kalla** en **2012,** a rapporté que la majorité de composants dans les huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* sont des monoterpènes. Ces derniers sont connus par leurs propriétés antimicrobiennes, de plus les monoterpènes cycliques en raison de leurs caractères lipophiles ont tendance à s'intégrer au niveau de la membrane cellulaire. Ce qui provoque une expansion de la membrane et une augmentation de sa fluidité, permettant ainsi un efflux plus au moins important des composants intra-cytoplasmiques, qui entraîne la mort cellulaire **[(Grundy et Still, 1985) ; (Sikkema *et al*., 1994)]**.

Il a été rapporté aussi que les monoterpènes possèdent des effets délétères sur les membranes mitochondriales et provoquent une inhibition du métabolisme énergétique mitochondrial, ce qui entraîne des perturbations importantes des processus physiologiques vitaux et métaboliques de la cellule **(Sharma *et al*., 2011)**.

Les coumarines sont des substances phénoliques formées par la fusion d'un benzène et de cycle de α-pyrone **(O'Kennedy et Thornes, 1997)**. Les acides hydroxycinnamiques liés aux coumarines semblent être inhibitrice de la croissance des bactéries à Gram positif **(Fernández *et al*., 1996)**. À titre d'exemple, les phytoalexines, qui sont des dérivés hydroxylés de coumarines sont produites dans les carottes en réponse à une infection fongique et peuvent être présumés avoir une activité antifongique **(Hoult et Paya, 1996)**.

La présence du groupement hydroxyle (–OH) dans les composés phénoliques joue un rôle important dans l'activité antimicrobienne, comme le cas de carvacrol et le thymol, deux composés phénoliques bien étudiés auparavant pour leur relation structure-activité. Ce groupe actif favorise la délocalisation des électrons qui agissent alors comme des échangeurs de protons et de réduire le gradient à travers la membrane cytoplasmique des cellules bactériennes. Cela entraînera l'effondrement de la force motrice de protons puis l'épuisement de l'ATP et finalement la mort cellulaire **(Ultee *et al*., 2002)**.

Tel que rapporté par **Dorman et Deans (2000)**, la position du groupement –OH d'un composé influence également son efficacité antimicrobienne. Par exemple, la structure générale du thymol est similaire à celle du carvacrol; cependant leur efficacité antimicrobienne diffère vis-à-vis des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Cette différence a été attribuée à la position du groupement –OH, situé en position méta dans le thymol, et en position ortho dans le carvacrol. Par ailleurs, l'équipe d'**Alcaraz** en **2000** ont également signalé l'importance de la position du groupement –OH dans l'activité antibactérienne des flavonoïdes, surtout en position 5 dans le cas des flavanones et flavones, vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* MRSA. Le mécanisme spécifique en cause dans ce cas est la déstabilisation de la membrane cytoplasmique par des composés phénoliques avec des groupements –OH agissant comme des échangeurs de protons, réduisant ainsi le gradient de pH à travers la membrane cytoplasmique et conduisant à la mort cellulaire **[(Lai et Roy, 2004) ; (Xue *et al*., 2013)]**.

Le nombre de doubles liaisons dans la structure chimique d'un composé est aussi important dans son activité antimicrobienne. À titre d'exemple, entre le citronellol, le géraniol et le nérol; le citronellol s'est révélé être le moins efficace en raison de la présence d'une seule double liaison dans sa structure. Alors que le géraniol et nérol en possédant deux doubles liaisons chacun, ils ont montré de ce fait une activité antimicrobienne plus élevée vis-à-vis de certaines bactéries (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) et levure (*Candida albicans*) **[(Falleh *et al*., 2008) ; (Gochev *et al*., 2010)]**.

La relation structure-fonction des terpènes a été étudiée par **Griffin *et al*. (2005)**, qui ont pu constater qu'une légère différence structurale dans la position du groupement –OH peut jouer un rôle significatif dans l'activité antimicrobienne des terpènes. À titre d'exemple le terpenen -4-ol provoque une fuite d'ion $K^+$ des cellules d'*Escherichia coli* à une concentration très faible par rapport à l'α-terpineol. Le mode d'action antimicrobien général des terpènes les plus hydroxylés c'est leur capacité de provoquer la fuite des ions $K^+$ intracellulaire vers l'extérieur **(Figueiredo *et al*., 2008)**.

Par ailleurs, le groupement aldéhyde associé au carbone à double liaison a une électronégativité élevée, ce qui augmente son activité antimicrobienne **[(Kurita *et al*., 1981); (Moleyar et Narasimham, 1986)]**. Cet effet peut être expliqué par le fait que les composés électronégatifs interfèrent avec le transfert d'électrons et interagissent avec les protéines et les acides nucléiques, ce qui inhibe indirectement la croissance des micro-organismes **(Dorman et Deans, 2000)**.

Avec l'évolution de la société, le consommateur est devenu plus soucieux de sa sécurité alimentaire. L'alimentation qu'elle soit d'origine, végétale ou animale, doit répondre à des critères de qualité, entre autres la sécurité sanitaire. La nature des dangers peut être diverse chimique et biologique **(El khoury, 2007)**.

Les moisissures sont des champignons microscopiques qui grâce à leurs spores se disséminent très facilement et peuvent causer des mycoses, des allergies ou altérer les produits alimentaires. Elles peuvent alors envahir toutes sortes de produits alimentaires **(Fangeat, 2008)**. Pour cette raison, la mise au point des solutions concrètes et le développement d'un programme d'action pour mieux gérer les risques liés à la présence de la flore fongique et leurs toxines dans les aliments sont devenus l'un des objectifs majeurs pour maintenir

l'approvisionnement mondial en aliments **[(Lopez-garcia *et al*., 1999) ; (Fortier et Turgeon, 2008)]**.

Pour lutter contre ce problème majeur, différentes plantes sont caractérisées par la synthèse des substances actives qui peuvent être soit des métabolites secondaires tels les polyphénols, les huiles essentielles, les alcaloïdes…, soit des métabolites primaires tels les huiles fixes **(Meunier, 2003)**.

L'efficacité antifongique de ces substances est essentiellement due à leur teneur en molécules bioactives variées appartenant à différentes classes chimiques, pouvant être mises à profit pour réduire la flore fongique contaminante **(Ouraïni *et al*., 2005)**.

Dans notre étude, l'évaluation de l'activité antifongique des extraits de *Pituranthos scoparius* révèle une faible activité antifongique vis-à-vis des trois souches de *Candida albicans* testées, mais une activité plus importante vis-à-vis des deux espèces de champignons filamenteux testés. La réduction du diamètre des colonies mycéliennes des deux isolats en présence des extraits de *Pituranthos scoparius* atteint des pourcentages pouvant dépasser 80 % à une concentration finale d'extrait de 1 mg/mL, ce qui laisse supposer l'existence d'un ou plusieurs principes actifs aux propriétés antifongiques qui inhibent la croissance des champignons.

Les travaux de **Krifa *et al*. (2011)** ont montré que les huiles essentielles de la partie aérienne de *Pituranthos tortuosus* présentent une forte inhibition de la croissance des champignons mycéliens *Fusarium graminearum* et *Alternaria sp.* avec un pourcentage d'inhibition qui varie entre 59,5 % et 23,8 % respectivement à une concentration de 4 µL/mL.

Il est bien connu aujourd'hui que l'action antifongique des substances a pour cible la membrane plasmique **(Pohl *et al*., 2011)**. La toxicité des composés phénoliques envers les champignons est due à l'inactivation des enzymes fongiques contenant le groupement sulfhydryle-S-H dans leur site actif **[(Celimene *et al*., 1999) ; (Cowan, 1999)]**.

Dans le cas des extraits bruts de composition plus complexes, l'effet inhibiteur de la croissance mycélienne serait le résultat de l'action combinée et additive de plusieurs constituants agissant chacun leurs propre mode d'action.

Par ailleurs, de nombreuses études ont montré que la phytothérapie n'est pas sans risque. Les atteintes toxiques concernent la plupart des organes chez l'homme. Nous pouvons citer notamment l'insuffisance rénale liée à l'usage erroné de certaines plantes, les atteintes cardiaques par intoxication à l'aconit ou des atteintes pulmonaires liées à certaines menthes **[(Larrey, 1997) ; (Peyrin-Biroulet *et al*., 2004)]**.

Les saponosides ont des propriétés hémolytiques généralement attribuées à leur interaction avec les stérols de la membrane érythrocytaire. Ainsi, chaque plante suspecte devrait être examinée au préalable pour sa toxicité vis-à-vis des cellules et des tissus humains. Il est important de vérifier aussi si la production des poisons est influencée par l'âge du végétal, les saisons, la culture, le sol, s'ils sont saisonniers ou permanents, volatiles et destructibles par la cuisson ou fixes et résistants à de hautes températures **(Bruneton, 1999)**.

En considérant l'utilisation de ces composés en médecine humaine, l'analyse des propriétés hémolytiques des composés naturels doit être faite à un stade précoce **[(Devecioglu *et al*., 2000) ; (Raupp *et al*., 2001)]**.

En suivant les recommandations de la « Food and Drugs Administration » **(FDA, 2005)**, qui consiste à évaluer les seuils hémolytiques potentiels des composés administrés dans le corps humain, notre travail a été basé sur l'étude de l'effet hémolytique de certains extraits vis-à-vis d'un modèle de cellules humaines, les globules rouges provenant d'un donneur unique sain par le dosage du taux d'hémoglobine libéré dans le milieu extracellulaire en présence de différentes concentrations d'extraits à tester.

Lorsque la membrane plasmique des globules rouges entre en contact avec un agent hémolytique, ceci conduit à la lyse cellulaire qui se traduit par la libération de l'hémoglobine dans le milieu extracellulaire.

Les résultats obtenus montrent une absence totale d'effet toxique pour les extraits aqueux vis-à-vis des globules rouges aux différentes concentrations testées contrairement à l'extrait hydroacétonique obtenu par macération, qui s'est montré relativement plus toxique.

En définitif, les extraits obtenus par chauffage sous reflux sont moins toxiques que ceux obtenus par macération. Ce qui laisse supposer que les substances responsables de l'effet hémolytique des globules rouges seraient thermolabiles.

# *Cinquième partie*

# *Conclusion générale*

Ce travail est une contribution à la valorisation de la flore locale et son usage en médecine traditionnelle, faisant partie de notre patrimoine naturel et culturel, en vue de leur application dans les domaines de la santé et de l'alimentation.

Les résultats que nous avons obtenus ont montré que la plante *Pituranthos scoparius* contient des composés actifs capables d'agir comme agent antimicrobien et antioxydant dont les tanins, les coumarines, les flavonoïdes, les stérols et les terpènes. Ce qui explique son utilisation en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies.

Nous avons pu mettre en évidence également l'effet antiradicalaire de certains extraits ainsi que leur pouvoir réducteur du fer. Les extraits hydrométhanolique et hydroacétonique se sont montrés plus efficaces vis-à-vis des souches testées. Ces extraits n'ont montré aucun effet hémolytique vis-à-vis des globules rouges humains à une concentration de 0,5 mg/mL jusqu'à 90 minutes d'incubation à 37°C.

Il serait intéressant à l'avenir d'approfondir cette étude dans le but d'isoler et d'identifier les molécules bioactives par un fractionnement bioguidée et tenter d'élucider leurs mécanismes d'action, leur efficacité, leur effet synergique : combiné entre eux ou bien avec des agents antimicrobiens conventionnels sur des germes pathogènes, ainsi que leur toxicité éventuelle chez l'être humain.

# *Sixième partie*

# *Références bibliographiques*

1. **Abdelguerfi A., Ramdane, M. S. A. (2003)** Évaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture. *Projet ALG/97 G, 31*, Plan d'action et stratégie nationale sur la biodiversité. Tome XI, p. 230.
2. **Adam F., Drouillard I. (2003)** Sulfamides et associations. Encycl Méd Chir, *Maladies infectieuses*, 8-004-A-10 :9.
3. **Adhvaryu M., Vakharia B. (2011)** Drug-resistant tuberculosis: emerging treatment options. *Clinical pharmacology: advances and applications*, 3:51-67.
4. **Afaq S.H., Shehbaz. A., Masood A.K., Owais M., Nadeem A. (2004)** Antibiotic screening of certain Unani medicinal plants. *Indian Drugs-Bombay*, 41(4), 236-239.
5. **Alcaraz L. E., Blanco S. E., Puig O. N., Tomas F., Ferretti F. H. (2000)** Antibacterial activity of flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of Theoretical Biology*, 205 (2), 231-240.
6. **Alma M. H., Mavi A., Yildirim A., Digrak M., Hirata T. (2003)** Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26 (12), 1725-1729.
7. **Al-Ja'fari A. H., Vila R., Freixa B., Tomi F., Casanova J., Costa J., Cañigueral S. (2011)** Composition and antifungal activity of the essential oil from the rhizome and roots of *Ferula hermonis*. *Phytochemistry*, 72(11), 1406-1413.
8. **Amin A. H., Subbaiah T. V., Abbasi K. M. (1969)** Berberine sulfate: antimicrobial activity, bioassay, and mode of action. *Canadian journal of microbiology*, 15(9), 1067-1076.
9. **Amin M., Kurosaki F., Nishi A. (1988)** Carrot phytoalexin alters the membrane permeability of *Candida albicans* and multilamellar liposomes. *Journal of general microbiology*, 134(1), 241-246.
10. **Ardestani A., Yazdanparast R. (2007)** Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* on *in vitro* protein glycoxidation. *Food and chemical toxicology*, 45(12), 2402-2411.
11. **Arendrup M. C., Sulim S., Holm A., Nielsen L., Nielsen S. D., Knudsen J. D., Johansen H. K. (2011)** Diagnostic Issues, Clinical Characteristics and Outcome for Patients with Fungaemia. *Journal of clinical microbiology*, JCM-00179.

12. **Arora D.S., Kaur J. (1999)** Antimicrobial activity of spices. *International Journal of antimicrobial agents*, 12: 257-262.
13. **Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Louis H., Boudaoud H., Debbach N. (2009)** Antioxydant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants, *Food Chemistry*, 112:303-309.
14. **Bagamboula C. F., Uyttendaele M., Candan F., Daferera D., Unli G. V., Polissiou M., Sokmen A. (2004)** Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptanha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl.). *Food* Chemistry, 84: 519-525.
15. **Basri D. F., Fan S. H. (2005)** The potential of aqueous and acetone extracts of galls of Quercus infectoria as antibacterial agents. *Indian Journal of Pharmacology,* 37(1), 26.
16. **Bauer W. D., Mathesius U. (2004)** Plant responses to bacterial quorum sensing signals. *Current opinion in plant biology*, 7(4), 429-433.
17. **Bekhechi C., Atik-Bekkara F., Abdelouahid D. E. (2008)** Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie*, 6(3), 153-159.
18. **Benariba N., Djaziri R., Bellakhdar W., Belkacem N., Kadiata M., Malaisse W. J., Sener A. (2013)** Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Citrullus colocynthis* seeds extracts. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(1), 35-40.
19. **Benmekhbi L., Kabouche A., Kabouche Z. (2008)** Five glycosylated flavonoids from the antibacterial butanolic extract of *Pituranthos scoparius*. *Chemistr Nat Compounds*, 44: 5.
20. **Bjedov I., Tenaillon O., Gérard B., Souza V., Denamur E., Radman M., Matic I. (2003)** Stress-induced mutagenesis in bacteria. *Science*, 300 (5624), 1404-1409.
21. **Blignaut E., Pujol C., Lockhart S., Joly S., Soll D. R. (2002)** Ca3 fingerprinting of *Candida albicans* isolates from human immunodeficiency virus-positive and healthy individuals reveals a new clade in South Africa. *Journal of clinical microbiology*, 40(3), 826-836.
22. **Bonanomi G., Vinale F., Scala F. (2009)** The role of natural products in plant-microbe interactions. In *Plant-derived Natural Products*. Springer US, 301-320.

23. **Bonnaillie C., Salacs M., Vassiliova E., Saykova I. (2012)** Étude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). *Revue de génie industriel*, 7 : 35-45.
24. **Bouaziz M., Dhouib A., Loukil S. (2009)** Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts of some wild plants collected from the south of Tunisia. *African Journal of Biotechnologie*, 24: 7017–27.
25. **Boucher Y., Labbate M., Koenig J. E., Stokes H. W. (2007)** Integrons: mobilizable platforms that promote genetic diversity in bacteria. *Trends in microbiology*, 15(7), 301-309.
26. **Boudjelal A., Henchiri C., Sari M., Sarri D., Hendel N., Benkhaled A., Ruberto G. (2013)** Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of ethnopharmacology*, 148 (2), 395-402.
27. **Boukef M.K. (1986)** Médecine traditionnelle et pharmacopée : les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Tunisie. Librairie Larose, Paris 350.
28. **Boutaghane N., Nace, A., Kabouche Z., Ait-Kaki B. (2004)** Comparative antibacterial activities of the essential oils of stems and seeds of *Pituranthos scoparius* from Algerian septentrional Sahara. *Chemistry of natural compounds*, 40 (6), 606-607.
29. **Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Goran A., Igic R. (2008)** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food chemistry*, 111(4), 925-929.
30. **Bruneton J. (1999)** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3e edition, Edition Lavoisier TEC et DOC.
31. **Bryskier A. (1999)** Fluoroquinolones (II). Usage en thérapeutique et tolérance. Encycl Méd Chir, *Maladies infectieuses*, 8-004-B-11 :14.
32. **Calop J., Limat S., Fernandez C. (2008)** *Pharmacie clinique et thérapeutique*. Elsevier Health Sciences : 1308-1099.
33. **Cattoir V. (2006)** Chloramphénicol, fosfomycine, acide fusidique et polymixines. In : antibiogramme COURVALAIN.P, LECLERCQ.R, BINGEN.E. 2ème édition : 349-364.
34. **Celiktas O. Y., Kocabas E. H., Bedir E., Sukan F. V., Ozek T., Baser K. H. C. (2007)** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100 (2), 553-559.

35. **Celimene C. C., Micales J. A., Ferge L., Young R. A. (1999)** Efficacy of pinosylvins against white-rot and brown-rot fungi. *Holzforschung*, 53(5), 491-497.
36. **Chin Y. W., Balunas M. J., Chai H. B., Kinghorn A. D. (2006)** Drug discovery from natural sources. *The AAPS journal*, 8(2), 239-253.
37. **Choi E. M., Hwang J. K. (2004)** Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*. *Fitoterapia*, 75(6), 557-565.
38. **Chopra I., O'Neill A.J., Miller K. (2003)** The role of mutators in the emergence of antibioticresistant bacteria. *Drug Resist*, 6: 137–145.
39. **Ciocan I.D., Bara I.I. (2007)** Plant products as antimicrobial agents. *Genetică Biologie Moleculară*, 8(1), 151-156.
40. **CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), M27-A3. (2008)** CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard—Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.)
41. **CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), M2-A9. (2010)** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, approved standard, 9th ed., CLSI, Wayen, PA.
42. **CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), M07-A8. (2010)** Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Eighth Edition.
43. **Cooper R. M., Resende M. L., Flood J., Rowan M. G., Beale M. H., Potter U. (1996)** Detection and cellular localization of elemental sulphur in disease-resistant genotypes of Theobroma cacao. *Nature*, 379 (6561), 159-162.
44. **Coruh N., Celep A. S., Özgökçe F. (2007)** Antioxidant properties of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., *Chaerophyllum macropodum* Boiss. and *Heracleum persicum* Desf. from Apiaceae family used as food in Eastern Anatolia and their inhibitory effects on glutathione-S-transferase. *Food chemistry*, 100 (3), 1237-1242.
45. **Cosgrove S. E. (2006)** The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay, and health care costs. *Clinical Infectious Diseases*, 42(2), S82-S89.

46. **Coskun O., Kanter M., Korkmaz A., Oter S. (2005)** Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β-cell damage in rat pancreas. *Pharmacological research*, 51 (2), 117-123.
47. **Courvalin P., Cuot P. T. (2001)** Minimizing potential resistance: the molecular view. *Clinical infectious diseases*, 33 (3), S138-S146.
48. **Cowan M.M. (1999)** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 564–582.
49. **Cushnie T. T., Lamb A. J. (2005)** Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26 (5), 343-356.
50. **Dannaoui É. (2013)** Résistance des *Candida* aux antifongiques : détection et mécanismes. *Revue francophone des laboratoires*, (450), 71-77.
51. **Davies J. (1994)** Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science*, 264 (5157), 375-382.
52. **Degraft- Johnson J., Kolodziejczyk K., Krol M., Nowak P., Krol B., Nowak D. (2007)** Ferric-Reducing Ability Power of Selected Plant Polyphenols and their metabolites: Implication for clinical Studies on the Antioxidant Effects of Fruits and Vegetable Consumption. *Basic* & *Clinical pharmacology &Toxicology*, 100: 345-352.
53. **Demirci B., Koşar M., Demirci F., Dinc M., Başer K. H. C. (2007)** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kotschy. *Food chemistry*, 105 (4), 1512-1517.
54. **Denamur E., Bonacorsi S., Giraud A., Duriez P., Hilali F., Amorin C., Bingen E., Andremont A., Picard B., Taddei F., Matic I. (2002)** High frequency of mutator strains among human uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *Journal of bacteriology*, 184 (2), 605-609.
55. **Devecioğlu C., Katar S., Doğru O., Taş M. A. (2000)** Henna-induced hemolytic anemia and acute renal failure. *The Turkish journal of pediatrics*, 43(1), 65-66.
56. **Deysson G. (1978)** Organisation et classification des plantes vasculaires: cours de botanique générale quatrième série, tome II, Paris, 1979, 529.
57. **Didi O. E. H. M., Zabeirou H. (2003)** Place des plantes spontanées dans la médicine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional Est) Place of the spontaneous plants samples in the traditional pharmacopoeia of the area of Ouargla (Septentrional East Sahara). *Courrier du Savoir*, 3.

58. **Dixon R. A., Dey P. M., Lamb C. J. (1983)** Phytoalexins: enzymology and molecular biology. *Adv. Enzymol*, 55:1–69.
59. **Dorman H. J. D., Deans S. G. (2000)** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316.
60. **Duarte M.C., Figueira G.M., Sartoratto A., Rehder V.L., Delarmelina C. (2005)** Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 97: 305-311.
61. **Dupont F., Guignard J. L. (2007)** Botanique : Système moléculaire. Elsevier Health Sciences.
62. **Dzidic S., Bedeković V. (2003)** Horizontal gene transfer-emerging multidrug resistance in hospital bacteria. *Acta Pharmacologica Sinica*, 24 (6), 519-526.
63. **El Khoury A. (2007)** *Champignons Mycotoxinogènes et Ochratoxine A (OTA) et Aflatoxine B1 (AFB1) dans les vignobles libanais: Occurrence et Origine* (Doctoral dissertation).
64. **Eliopoulos G. M., Blázquez J. (2003)** Hypermutation as a factor contributing to the acquisition of antimicrobial resistance. *Clinical infectious diseases*, 37 (9), 1201-1209.
65. **Eloff J. N. (2001)** Antibacterial activity of Marula (*Sclerocarya birrea* (A. rich.) Hochst. subsp. caffra (Sond.) Kokwaro) (Anacardiaceae) bark and leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 76 (3), 305-308.
66. **Eloff J. N., Famakin J. O., Katerere D. R. P. (2011)** *Combretum woodii* (Combretaceae) leaf extracts have high activity against Gram-negative and Gram-positive bacteria. *African Journal of Biotechnology*, 4 (10).
67. **Eloff J. N., Masoko P., Picard J. (2007)** Resistance of animal fungal pathogens to solvents used in bioassays. *South African Journal of Botany*, 73 (4), 667-669.
68. **El-Seedi H. R., Sata N., Torssell K. B., Nishiyama S. (2002)** New Labdene Diterpenes from *Eupatorium glutinosum*. *Journal of natural products*, 65 (5), 728-729.
69. **Epifano F., Genovese S., Menghini L., Curini M. (2007)** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, 68 (7), 939-953.
70. **Erdman J. W., Balentine D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Burrowes J. (2007)** Flavonoids and heart health: Proceedings of the ILSI North America

flavonoids workshop, May 31–June 1, 2005, Washington, DC. *The Journal of nutrition*, 137 (3), 718S-737S.

71. **Espinel-Ingroff A. (2009)** Novel antifungal agents, targets or therapeutic strategies for the treatment of invasive fungal diseases: a review of the literature (2005-2009). *Revista iberoamericana de micología*, 26 (1), 15-22.
72. **Fabricant D. S., Farnsworth N. R. (2001)** The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental health perspectives*, 109 (1), 69.
73. **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C. (2008)** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331 (5), 372-379.
74. **Fangeat, L. (2008)** *Les Mycotoxines chez les bovins* (Doctoral dissertation, Thèse Docteur Vétérinaire Ecole Nationale Vétérinaire De Lyon (France).
75. **Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D., Guo Z.G. (1985)** Medicinal plant in therapy. *Bull world health org*, 63: 83-97.
76. **FDA. (2005)** Guidance for industry - Nonclinical studies for the safety evaluation of pharmaceutical excipients.
77. **Fernández M. A., Garcia M. D., Saenz M. T. (1996)** Antibacterial activity of the phenolic acids fractions of *Scrophularia frutescens* and *Scrophularia sambucifolia*. *Journal of ethnopharmacology*, 53 (1), 11-14.
78. **Figueiredo A. R., Campos F., de Freitas V., Hogg T., Couto J. A. (2008)** Effect of phenolic aldehydes and flavonoids on growth and inactivation of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus hilgardii*. *Food microbiology*, 25 (1), 105-112.
79. **Fortier M.P, Turgeon M.J. (2008)** Les mycotoxines dans l'alimentation porcine, un problème important. Centre de développement du porc du Québec.
80. **Gao M., Teplitski M., Robinson J.B., Bauer W.D. (2003)** Production of substances by Medicago truncatula that affect bacterial quorum sensing. *Mol. Plant Microbe Inter*, 16: 827-834.
81. **Garo B. (2004)** L'arsenal thérapeutique contre les maladies infectieuses. Les maladies infectieuse-CLIN, conférence de consensus commune 13 mai.
82. **Gigou-Cornet M. (2006)** Rôle des gènes RIM et VPS dans la signalisation du pH, la virulence et la résistance aux antifongiques chez la levure *Candida albicans* (Doctoral dissertation, INAPG (AgroParisTech)).

83. **Giraud A., Matic I., Radman M., Fons M., Taddei F. (2002)** Mutator bacteria as a risk factor in treatment of infectious diseases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46 (3), 863-865.
84. **Gochev V., Dobreva A., Girova T., Stoyanova A. (2010)** Antimicrobial activity of essential oil from *Rosa alba*. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24 (1), 512-515.
85. **Gourine N., Merrad B., Yousfi M., Stocker P., Gaydou E. M. (2011)** Chemical composition of the essential oil of *Pituranthos scoparius*. *Natural product communications*, 6 (8), 1151-1154.
86. **Green R. J. (2004)** Antioxidant activity of peanut plant tissues. Masters Thesis. North Carolina State University. USA.
87. **Griffin S. G., Wyllie S. G., Markham J. L. (2005)** Antimicrobially active terpenes cause K+ leakage in E. coli cells. *Journal of Essential Oil Research*, 17 (6), 686-690.
88. **Grundy D. L., Still C. C. (1985)** Inhibition of acetylcholinesterases by pulegone-1, 2-epoxide. *Pesticide biochemistry and physiology*, 23 (3), 383-388.
89. **Hamada H., Mohammed B., Massiot G., Long C., Lavaud C. (2004)** Alkylated isocoumarins from *Pituranthos scoparius*. *Natural product research*, 18 (5), 409-413.
90. **Hammiche V., Maiza K. (2006)** Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of ethnopharmacology*, 105 (3), 358-367.
91. **Harbarth S., Samore M. H. (2005)** Antimicrobial resistance determinants and future control. *Emerg Infect Dis*, 11 (6), 794-801.
92. **Härmälä P., Vuorela H., Törnquist K., Hiltunen R. (1992)** Choice of solvent in the extraction of *Angelica archangelica* roots with reference to calcium blocking activity. *Planta medica*, 58 (2), 176-183.
93. **Hirasa K., Takemasa M. (1998)** Antimicrobial and antioxidant properties of spices. *Spice science and technology*, 163-200.
94. **Hogan D., Kolter R. (2002)** Why are bacteria refractory to antimicrobials? *Current opinion in microbiology*, 5 (5), 472-477.
95. **Hoult J. R. S., Paya M. (1996)** Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. *General Pharmacology: The Vascular System*, 27 (4), 713-722.

96. **Hubert J. (2006)** Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja: étude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines.

97. **Hughes I. (2002)** Isoprenoid compounds and phenolic plant constituents, Elsevier, N.Y. *Journal of Pharmacology*, 37 (1), 26-29.

98. **Jalal K. C. A., John B. A., Kamaruzzaman B. Y., Kathiresan K. (2012)** Emergence of Antibiotic Resistant Bacteria from Coastal Environment-*A Review*. INTECH Open Access Publisher, ISBN: 978-953-51-0472-8.

99. **Jones P., Andersen M.D., Nielsen J.S., Høj P.B., Møller B.L. (2000)** The biosynthesis, degradation, transport and possible function of cyanogenic glucosides. *Phytochemistry*, 34.

100. **Jones G. A., McAllister T. A., Muir A. D., Cheng K. J. (1994)** Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 60 (4), 1374-1378.

101. **Kablan B. J., Adiko M., Abrogoua D. P. (2008)** Évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmies en Côte d'Ivoire. *Phytothérapie*, 6 (5), 282-288.

102. **Kalemba D., Kunicka A. (2003)** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10 (10), 813-829.

103. **Kalla Ali. (2012)** Étude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius, Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum.* Thèse de doctorat. Option : phytochimie. L'Universite Mentouri- Constantine. Faculté des Sciences Exactes. Département de Chimie.

104. **Karagözler A. A., Erdağ B., Emek Y. Ç., Uygun D. A. (2008)** Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chemistry*, 111 (2), 400-407.

105. **Kariuki S., Hart C. A. (2001)** Global aspects of antimicrobial-resistant enteric bacteria. *Current opinion in infectious diseases*, 14 (5), 579-586.

106. **Karumi Y., Onyeyili P. A., Ogugbuaja V. O. (2004)** Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci*, 4 (3), 179-182.

107. **Katerere D. R., Gray A. I., Nash R. J., Waigh R. D. (2003)** Antimicrobial activity of pentacyclic triterpenes isolated from African Combretaceae. *Phytochemistry*, 63 (1), 81-88.
108. **Kibbler C. C., Seaton S., Barnes R. A., Gransden W. R., Holliman R. E., Johnson E. M., Wilson J. A. (2003)** Management and outcome of bloodstream infections due to *Candida* species in England and Wales. *Journal of Hospital Infection*, 54 (1), 18-24.
109. **Kim J. M., Marshall M. R., Cornell J. A., Preston J.F., Wei C. I. (1995)** Antibacterial activity of carvacrol, citral, and geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and on fish cubes. *Journal of Food Science*, 60 (6), 1364-1368.
110. **Kinghorn A. D., Chin Y. W., Swanson S. M. (2009)** Discovery of natural product anticancer agents from biodiverse organisms. *Current opinion in drug discovery & development*, 12 (2), 189.
111. **Klausmeyer P., Chmurny G. N., McCloud T. G., Tucker K. D., Shoemaker R. H. (2004)** A Novel Antimicrobial Indolizinium Alkaloid from *Aniba panurensis*. *Journal of natural products*, 67 (10), 1732-1735.
112. **Kollef M. H. (2001)** Optimizing antibiotic therapy in the intensive care unit setting. *Critical Care*, 5(4), 189.
113. **Komolafe O. O. (2004)** Antibiotic resistance in bacteria-an emerging public health problem. *Malawi Medical Journal*, 15 (2), 63-67.
114. **Kotze M., Eloff J. N. (2002)** Extraction of antibacterial compounds from *Combretum microphyllum* (Combretaceae). *South African Journal of Botany*, 68 (1), 62-67.
115. **Kouamé J. A., Gnoula C., Palé E., Bassolé H., Guissou I. P., Simporé J., Nikièma J. B. (2009)** Étude des propriétés cytotoxiques et antiradicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* JF Gmel (Combretaceae). *Sciences de la santé*, 32 (1), 2.
116. **Krašovec R., Jerman I. (2003)** Bacterial multicellularity as a possible source of antibiotic resistance. *Medical hypotheses*, 60 (4), 484-488.
117. **Krifa M., Gharad T., Haouala R. (2011)** Biological activities of essential oil, aqueous and organic extracts of *Pituranthos tortuosus* (Coss.) Maire. *Scientia horticulturae*, 128 (1), 61-67.

**118. Kurita N., Miyaji M., Kurane R., Takahara Y. (1981)** Antifungal activity of components of essential oils. *Agricultural and Biological Chemistry,* 45 (4), 945-952.

**119. Lai P. K., Roy J. (2004)** Antimicrobial and chemopreventive properties of herbs and spices. *Current medicinal chemistry*, 11 (11), 1451-1460.

**120. Larrauri J. A., Sánchez-Moreno C., Saura-Calixto F. (1998)** Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46 (7), 2694-2697.

**121. Larrey D. (1997)** Hepatotoxicityof herbal remedies. *Journal of Hepatology*, 26: 47-51.

**122. Le Minor L., Veron M. (1989)** Bactériologie Médicale, Flammarion: 1107.

**123. Lee J.Y., Cho P.Y., Kim T.Y., Kang S.Y., Song K.Y., Hong S.J. (2002)** Hemolytic activity and developmental expression of pore-forming peptide, clonorin. *Biochem. Biophys. Res. Commun,* 296: 1238–1244.

**124. Lee S. H., Chang K. S., Su M. S., Huang Y. S., Jang H. D. (2007)** Effects of some Chinese medicinal plant extracts on five different fungi. *Food control*, 18 (12), 1547-1554.

**125. Lemke A., Kiderlen A. F., Kayser O. (2005)** Amphotericin B. *Applied microbiology and biotechnology*, 68 (2), 151-162.

**126. Lewis K., Ausubel F. M. (2006)** Prospects for plant-derived antibacterials. *Nature biotechnology*, 24 (12), 1504-1507.

**127. Li H. Y., Hao Z. B., Wang X. L., Huang L., Li J. P. (2009)** Antioxidant activities of extracts and fractions from *Lysimachia foenum-graecum* Hance. *Bioresource technology*, 100 (2), 970-974.

**128. Lima-Filho J. V., de Aguiar Cordeiro R. (2014)** *In vitro* and *in vivo* antibacterial and antifungal screening of natural plant products: prospective standardization of basic methods. Springer New York. In *Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology*, 275-291.

**129. Lin C. C., Chan T. Y., Deng J. F. (2004)** Clinical features and management of herb-induced aconitine poisoning. *Annals of emergency medicine*, 43 (5), 574-579.

**130. Liu J., Dehbi M., Moeck G., Arhin F., Bauda P., Bergeron D., DuBow M. (2004)** Antimicrobial drug discovery through bacteriophage genomics. *Nature biotechnology*, 22 (2), 185-191.

131. **Liu R. H. (2004)** Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of nutrition*, 134 (12), 3479S-3485S.

132. **Lomovskaya O., Zgurskaya H. I., Totrov M., Watkins W. J. (2007)** Waltzing transporters and the dance macabre' between humans and bacteria. *Nature reviews Drug discovery*, 6 (1), 56-65.

133. **Lopez-garcia R., Park D.L., Gutierrez M.B. (1999)** Procédé pour réduire la présence des mycotoxines dans les denrées alimentaires. Dans. Conseil supérieur d'hygiène publique de France, section de l'alimentation et de nutrition. Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque. Chapitre XV. Quatrième Partie : gestion du risque. (pp. 387-404). Lavoisier, France : Technique & Documentation.

134. **Lourens A. C. U., Reddy D., Başer K. H. C., Viljoen A. M., Van Vuuren S. F. (2004)** *In vitro* biological activity and essential oil composition of four indigenous South African *Helichrysum* species. *Journal of ethnopharmacology*, 95 (2), 253-258.

135. **Machado T. B., Pinto A. V., Pinto M. C. F. R., Leal I. C. R., Silva M. G., Amaral A. C. F., Netto-dosSantos K. R. (2003)** *In vitro* activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International journal of antimicrobial agents*, 21 (3), 279-284.

136. **Macheix J. J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. (2005)** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques.

137. **Maciá M. D., Blanquer D., Togores B., Sauleda J., Pérez J. L., Oliver A. (2005)** Hypermutation is a key factor in development of multiple-antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains causing chronic lung infections. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49 (8), 3382-3386.

138. **Madigan M. T., Martinko J. M., Colonna B., Grossi M. (2007)** *Brock biologia dei microrganismi*. Casa Editrice Ambrosiana.

139. **Magee, A. R., Van Wyk, B. E., & Van Vuuren, S. F. (2007)** Ethnobotany and antimicrobial activity of sieketroos (Arctopus species). *South African Journal of Botany*, 73 (1), 159-162.

140. **Martinez J. L., Baquero F. (2000)** Mutation frequencies and antibiotic resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44 (7), 1771-1777.

141. **Martinez L. R., Fries B. C. (2010)** Fungal biofilms: relevance in the setting of human disease. *Current fungal infection reports*, 4 (4), 266-275.

142. **Matanjun P., Mohamed S., Mustapha N. M., Muhammad K., Ming C. H. (2008)** Antioxidant activities and phenolics content of eight species of seaweeds from north Borneo. *Journal of Applied Phycology*, 20 (4), 367-373.

143. **McMichael A. J. (2004)** Environmental and social influences on emerging infectious diseases: past, present and future. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 359 (1447), 1049-1058.

144. **McMichael A. J., Butler C. D. (2004)** Climate change, health, and development goals. *The Lancet*, 364 (9450).

145. **McTaggart B., Wong G. (2002)** Invasive Fungal Infection: Review and Update of Drug Management. *Can J Hosp Pharm*, 55 (2):S1-S19.

146. **Mekkiou R. (2005)** Recherche et détermination sturcturale des métabolites secondaires d'espèces du genre *Genista* (Fabaceae) : G. saharae, G.ferox. Thèse de Doctorat d'Etat en Chimie Organique. Option Phytochimie. Université Mentouri-Constantine.

147. **Meot-Duros L., Magné C. (2009)** Antioxidant activity and phenol content of *Crithmum maritimum* L. leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47 (1), 37-41.

148. **Meunier J. D. (2003)** Le rôle des plantes dans le transfert du silicium à la surface des continents. *Comptes Rendus Geoscience*, 335 (16), 1199-1206.

149. **Moleyar V., Narasimham P. (1986)** Antifungal activity of some essential oil components. *Food Microbiology*, 3 (4), 331-336.

150. **Moreira M. R., Ponce A. G., Del Valle C. E., Roura S. I. (2005)** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT-Food Science and Technology*, 38 (5), 565-570.

151. **Mulaudzi R. B., Ndhlala A. R., Finnie J. F., Van Staden J. (2009)** Antimicrobial, anti-inflammatory and genotoxicity activity of *Alepidea amatymbica* and *Alepidea natalensis* (Apiaceae). *South African Journal of Botany*, 75 (3), 584-587.

152. **NCCLS, M44-A. (2004)** Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline. (ISBN 1-56238-532-1). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.

153. **Ncube N. S., Afolayan A. J., Okoh A. I. (2008)** Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African journal of biotechnology*, 7(12).

154. **Nielsen B.E. (1970)** Dan. Tidskkr. Farm. 44, 111–286.

155. **Normark B. H., Normark S. (2002)** Evolution and spread of antibiotic resistance. *Journal of internal medicine*, 252 (2), 91-106.

156. **Novak I., Buzas G., Minker E., Kolfai M., Szendrei K. (1966)** *Planta Med.*,14: 57–61.

157. **O'Gara E. A., Hill D. J., Maslin D. J. (2000)** Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against Helicobacter pylori. *Applied and environmental microbiology*, 66 (5), 2269-2273.

158. **O'Kennedy R., Thornes R. D. (1997)** *Coumarins: biology, applications, and mode of action*. John Wiley & Sons.

159. **Oliveira A. C. D., Reis S. M. M., Vasconcellos A. G., Lage C. L. S. (2011)** Technological prospecting for patents on herbal medicines in Brazil. *International Research Journal of Biotechnology*, 2 (5), 78-84.

160. **Oliver Chen C. Y., Blumberg J. B. (2008)** Are there age-related changes in flavonoid bioavailability. *Phytochemicals aging and health. New York: Taylor Francis Group*, 19-31.

161. **Oloyede O. I. (2005)** Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4 (6), 379-381.

162. **Omolo M. O., Okinyo D., Ndiege I. O., Lwande W., Hassanali A. (2004)** Repellency of essential oils of some Kenyan plants against Anopheles gambiae. *Phytochemistry*, 65(20), 2797-2802.

163. **OMS. (2012)** World health statistics. www.who.int

164. **Osbourn A. (1996)** Saponins and plant defence—a soap story. *Trends in plant science*, 1 (1), 4-9.

165. **Ouraïni D., Agoumi A., Ismaïli-Alaoui M., Alaoui P. K., Cherrah Y., Amrani M., Belabbas M. A. (2005)** Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. *Phytothérapie*, 3 (4), 147-157.

166. **Ozanda P. (1991)** Flore et végétation du sahara. (3éme édition, augmentée). Ed. CNRS, Paris : 662 p.

167. **Parekh H. M., Pansuriya P. B., Patel M. N. (2005)** Characterization and antifungal study of *genuine oxovanadium* (IV) mixed-ligand complexes with Schiff bases. *Polish journal of chemistry*, 79 (12), 1843-1851.

168. **Parekh J., Karathia N., Chanda S. (2006)** Screening of some traditionally used medicinal plants for potential antibacterial activity. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68 (6), 832.

169. **Perry J. C., Guelfi J. D., Hanin B., Despland J. N. (2004)** Echelle d'évaluation des mécanismes de défense. Traduction et adaptation française du Defense Mechanism Rating scales de JC Perry.

170. **Peyrin-Biroulet L., Petitpain N., Kalt P., Ancel D., Petit-Laurent F., Trechot P., Bronowicki J. P. (2004)** Hépatotoxicité probable du gallate d'épigallocatéchol utilisé en phytothérapie. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 28 (4), 404-406.

171. **Pinto C.M.F., Maffia L.A., Casali V.W.D., Cardoso A.A. (1998)** *In vitro* effect of plant leaf extracts on mycelial growth and sclerotial germination of *Sclerotium cepivorum*. *Journal of Phytopathology* 146: 421-425.

172. **Ploy M. C., Lambert T., Couty J. P., Denis F. (2000)** Integrons: an antibiotic resistance gene capture and expression system. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 38 (6), 483-487.

173. **Podsędek A. (2007)** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 40 (1), 1-11.

174. **Pohl C. H., Kock J. L., Thibane V. S. (2011)** Antifungal free fatty acids: a review. *Science against microbial pathogens: current research and technological advances*, 1 : 61-71.

175. **Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. (2009)** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue du Génie Industriel*, 4 : 26-39.

176. **Pyo Y. H., Lee T. C., Logendra L., Rosen R. T. (2004)** Antioxidant activity and phenolic compounds of *Swiss chard* (Beta vulgaris subspecies cycla) extracts. *Food chemistry*, 85(1), 19-26.

**177. Quézel P., Santa S. (1962-1963)** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales (Tome 1, Tome 2).Ed du Centre National de la Recherche Scientifique.

**178. Rabe T., Van Staden J. (1997)** Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes. *Journal of Ethnopharmacology*, 56:81–87.

**179. Rani P., Khullar N. (2004)** Antimicrobial evaluation of some medicinal plants for their anti-enteric potential against multi-drug resistant *Salmonella typhi*. *Phytotherapy Research*, 18 (8), 670-673.

**180. Rappuoli R. (2004)** From Pasteur to genomics: progress and challenges in infectious diseases. *Nature medicine*, 10 (11), 1177-1185.

**181. Rates S. M. K. (2001)** Plants as source of drugs. *Toxicon*, 39(5), 603-613.

**182. Raupp P., Hassan J.A., Varughese M., Kristiansson B. (2001)** Henna causes life threatening haemolysis in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Archives of disease in childhood*, 85 (5), 411-412.

**183. Rios J. L., Recio M. C. (2005)** Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100 (1), 80-84.

**184. Rojas J. J., Ochoa V. J., Ocampo S. A., Muñoz J. F. (2006)** Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections. *BMC complementary and alternative medicine*, 6 (1), 2.

**185. Rowe-Magnus D. A., Mazel D. (1999)** Resistance gene capture. *Current opinion in microbiology*, 2 (5), 483-488.

**186. Sağdıç O., Özcan M. (2003)** Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food Control*, 14 (3), 141-143.

**187. Salgado C. D., O'Grady N., Farr B.M. (2005)** Prevention and control of antimicrobial-resistant infections in intensive care patients. *Critical care medicine,* 33 (10), 2373-2382.

**188. Savoia D. (2012)** Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future microbiology*, 7 (8), 979-990.

**189. Scalbert A. (1991)** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30 (12), 3875-3883.

**190. Scherer R., Godoy H. T. (2009)** Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112 (3), 654-658.

**191. Schmidt H. (1988)** Phenol oxidase (EC 1.14. 18.1) a marker enzyme for defense cells. *Progress in histochemistry and cytochemistry*, 17 (3), III-186.

**192. Seghir A., Boucherit-Otmani Z., Belkherroubi-Sari L., Boucherit K. (2014)** Cathétérisme et risque infectieux fongique au centre hospitalo-universitaire de Tlemcen: épidémiologie et sensibilité aux antifongiques. *Journal de Mycologie Médicale*, 24 (4), e179-e184.

**193. Shao P. L., Huang L. M., Hsueh P. R. (2007)** Recent advances and challenges in the treatment of invasive fungal infections. *International journal of antimicrobial agents*, 30 (6), 487-495.

**194. Sharma K. K., Sangraula H., Mediratta P. K. (2002)** Some new concepts in antibacterial drug therapy. *Indian journal of pharmacology*, 34 (6), 390-399.

**195. Shokeen P., Ray K., Bala M., Tandon V. (2005)** Preliminary studies on activity of *Ocimum sanctum*, *Drynaria quercifolia*, and *Annona squamosa* against *Neisseria gonorrhoeae*. *Sexually transmitted diseases*, 32 (2), 106-111.

**196. Sikkema J., De Bont J. A., Poolman B. (1994)** Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *Journal of Biological Chemistry*, 269 (11), 8022-8028.

**197. Singh A. (2012)** Phytomedicinal investigation for Antimicrobials based on chemical and biological properties of herbal medicines: An overview. *Novel Science International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1 (7).

**198. Smaili T., Zellagui A., Gherraf N., Flamini G., Cioni P. L. (2011)** Essential oil content of the flowers of *Pituranthos scoparius* in Algeria. *Medicinal Plants-International Journal of Phytomedicines and Related Industries*, 3 (2), 177-179.

**199. Smith C. J. (1996)** Tansley Review No. 86 Accumulation of phytoalexins: defence mechanism and stimulus response system. *New Phytologist*, 132 (1), 1-45.

**200. Sohn H. Y., Son K. H., Kwon C. S., Kwon G. S., Kang S. S. (2004)** Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussnetia papyrifera* (L.) Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* Nakai. *Phytomedicine*, 11(7), 666-672.

**201. Soliman K. M., Badeaa R. I. (2002)** Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food and chemical toxicology*, 40 (11), 1669-1675.

202. **Stermitz F. R., Lorenz P., Tawara J. N., Zenewicz L. A., Lewis K. (2000)** Synergy in a medicinal plant: antimicrobial action of berberine potentiated by 5′-methoxyhydnocarpin, a multidrug pump inhibitor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97 (4), 1433-1437.
203. **Stern J. L., Hagerman A. E., Steinberg P. D., Mason P. K. (1996)** Phlorotannin-protein interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 22 (10), 1877-1899.
204. **Taddei F., Radman M., Maynard-Smith J., Toupance B., Gouyon P. H., Godelle B. (1997)** Role of mutator alleles in adaptive evolution. *Nature*, 387 (6634), 700-702.
205. **Takia L., Messaoud R., Abderazak K., Pierre C., Gilles F. (2013)** Variation of essential oils composition of *Pituranthos scoparius* in Algeria. *Med. Plants & Indigen*, 2 (1): 1-11.
206. **Taylor R. S. L., Edel F., Manandhar N. P., Towers G. H. N. (1996)** Antimicrobial activities of southern Nepalese medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 50 (2), 97-102.
207. **Teplitski M., Robinson J. B., Bauer W. D. (2000)** Plants secrete substances that mimic bacterial N-acyl homoserine lactone signal activities and affect population density-dependent behaviors in associated bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 13 (6), 637-648.
208. **Tereschuk M. L., Baigorí M. D., de Figueroa L. I., Abdala L. R. (2004)** Flavonoids from *Argentine Tagetes* (Asteraceae) with antimicrobial activity. In *Public Health Microbiology*, 317-330.
209. **Tirapelli C. R., de Andrade C. R., Cassano A. O., De Souza F. A., Ambrosio S. R., da Costa F. B., de Oliveira A. M. (2007)** Antispasmodic and relaxant effects of the hidroalcoholic extract of *Pimpinella anisum* (Apiaceae) on rat anococcygeus smooth muscle. *Journal of Ethnopharmacology*, 110 (1), 23-29.
210. **Treutter D. (2005)** Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. *Plant Biology*, 7 (6), 581-591.
211. **Tsuchiya H., Sato M., Miyazaki T., Fujiwara S., Tanigaki S., Ohyama M., Tanaka T., Iinuma M. (1996)** Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 50:27–34.

212. **Turkmen N., Velioglu Y. S., Sari F., Polat G. (2007)** Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12 (3), 484-496.

213. **Ultee A., Bennik M. H. J., Moezelaar R. (2002)** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology*, 68 (4), 1561-1568.

214. **Van Wyk B. E. Wink M. (2004)** *Medicinal plants of the world* (pp. 1-480). Pretoria: Briza.

215. **Velioglu Y. S., Mazza G., Gao L., Oomah B. D. (1998)** Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46 (10), 4113-4117.

216. **Vérité P., Nacer A., Kabouche Z., Seguin E. (2004)** Composition of seeds and stems essential oils of *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Schinz. *Flavour and fragrance journal*, 19 (6), 562-564.

217. **Vermerris W., Nicholson R. L. (2007)** Phenolic compound biochemistry. *Springer Science & Business Media*.

218. **Verpoorte R. (2000)** Pharmacognosy in the new millennium: lead finding and biotechnology. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 52(3), 253-262.

219. **Viscoli C., Girmenia C., Marinus A., Collette L., Martino P., Vandercam B., Meunier F. (1999)** Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clinical infectious diseases*, 28 (5), 1071-1079.

220. **Voravuthikunchai S., Lortheeranuwat A., Jeeju W., Sririrak T., Phongpaichit S., Supawita T. (2004)** Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of Ethnopharmacology*, 94 (1), 49-54.

221. **Vuorela S. (2005)** *Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics*. Helsinki, Finland: University of Helsinki.

222. **Walsh G. (2003)** Biopharmaceutical benchmarks—2003. *Nature biotechnology*, 21 (11), 1396-1396.

223. **Waugh A. C., Long P. F. (2002)** Prospects for generating new antibiotics. *Science progress*, 85 (1), 73-88.

224. **Wittstock U., Gershenzon J. (2002)** Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens. *Current opinion in plant biology*, 5 (4), 300-307.

225. **Wojdyło A., Oszmiański J., Czemerys R. (2007)** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105 (3), 940-949.

226. **Xue J., Davidson P. M., Zhong Q. (2013)** Thymol nanoemulsified by whey protein-maltodextrin conjugates: the enhanced emulsifying capacity and antilisterial properties in milk by propylene glycol. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 61 (51), 12720-12726.

227. **Ya C., Gaffney S. H., Lilley T. H., Haslam E. (1989)** Carbohydrate—polyphenol complexation. Springer US. In *Chemistry and significance of condensed tannins*, 307-322.

228. **Yagupsky P. (2006)** Selection of antibiotic-resistant pathogens in the community. *The Pediatric infectious disease journal*, 25 (10), 974-976.

229. **Yala D., Merad A. S., Mohamedi D., Ouar Korich M. N. (2001)** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91 (1).

230. **Yeh M. L., Liu C. F., Huang C. L., Huang T. C. (2003)** Hepatoprotective effect of *Angelica archangelica* in chronically ethanol-treated mice. *Pharmacology*, 68 (2), 70-73.

# *Annexes*

## Annexe N°1 : Réactifs et caractérisation

- **Alcaloïdes**

**a) Réactif de Mayer**

**Solution A** : 1.358 g de chlorure de mercure $HgCl_2$ sont dissous dans 60 mL d'eau distillée ;

**Solution B** : 5 g d'iodure de potassium KI  sont dissous dans 10 mL d'eau distillée ;

Les solutions A et B sont mélangées et le volume final est ajusté à 100 mL avec d'eau distillée.

**b) Réactif de Wagner**

Dissoudre 2 g de KI et 1,27g d'I2 dans 75 mL d'eau distillée. Ajuster le volume total à 100 mL avec l'eau distillée.

- **Les composés réducteurs**

La liqueur de fehling est un mélange de deux solutions

Fehling A : Dissoudre 3.5 g de sulfate fr cuivre pentahydraté $CuSO_4.5H_2O$ dans 50 mL d'eau distillée.

Fehling B : Dissoudre 6.5 g d'ammoniaque $NH_4OH$, 17.3 g de tartrate de sodium et de potassium dans 35 mL d'eau distillé puis compléter le volume à 50 mL.

# Annexe N°2 : Milieux de culture

- **Bouillon nutritif (**Sigma-Aldrich: BioChemika)

  Formule en g/L

| | |
|---|---|
| Extrait de viande | 3,0 |
| Peptone | 5,0 |
| Chlorure de sodium | 5,0 |

pH= 7,2 (±0,2) à 37°C

Suspendre 13 g de la poudre dans un litre d'eau distillée, ensuite stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15min.

- **Gélose nutritif** (Sigma-Aldrich: 70148)

Formule en g/L

| | |
|---|---|
| Extrait de viande | 1,0 |
| Extrait de levure | 2,0 |
| Peptone | 5,0 |
| Chlorure de sodium | 5,0 |
| Agar | 15,0 |

pH = 7,4 (±0,2) à 25°C

Suspendre 28 g de la poudre dans un litre d'eau distillée ensuite chauffer sous agitation jusqu'àébullition pour la dissolution totale du milieu et stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15min

- **Sabouraud liquide**

Formule en g/L

| | |
|---|---|
| Glucose | 20 |
| Extrait de levure | 3,0 |
| Peptone | 10 |

- **Sabouraud gélose**

Formule en g/L

| | |
|---|---|
| Glucose | 20 |
| Extrait de levure | 3,0 |
| Peptone | 10 |
| Agar | 20 |

- **Meuller Hinton Agar** (CONDA Pronadisa)

Formule en g/L

| | |
|---|---|
| Infusion de viande de boeuf | 2,0 |
| Hydrolysat de caseine | 17,5 |
| Amidon | 1,5 |
| Agar | 17,0 |

pH= 7,4 (±0,2) à 25°C.

Suspendre 38 g de la poudre dans un litre d'eau distillée ensuite chauffer sous agitation jusqu'à ébullition pour la dissolution totale du milieu et stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15min.

- **Bouillon Muller Hinton** (Sigma-Aldrich : 70192)

Formule en g/L

| | |
|---|---|
| Hydrolysat de caéine | 17,5 |
| Infusion de viande de bœuf | 2,0 |
| Amidon | 1,5 |

pH= 7,4 (±0,2) à 25°C.

Suspendre 23 g de la poudre dans un litre d'eau distillée, ensuite stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15min.

- **RPMI 1640** avec L-glutamine sans $NaHCO_3$. (Sigma-Aldrich: R 6504-1L)

| Composants g/L | |
|---|---|
| Sels inorganiques | |
| Le nitrate de calcium • 4H2O | 0.1 |
| Sulfate de magnésium (anhydre) | 0.04884 |
| chlorure de potassium | 0.4 |
| Le bicarbonate de sodium | - |
| Chlorure de sodium | 6 |
| Phosphate disodique (anhydre) | 0.8 |
| Acides aminés | |
| L-Alanyl-L-Glutamine | - |
| L-Arginine | 0.2 |
| L-Asparagine (anhydre) | 0.05 |
| Acide L-aspartique | 0.02 |
| L-cystine • 2HCl | 0.0652 |
| Acide L-glutamique | 0.02 |
| L-Glutamine | 0.3 |
| Glycine | 0.01 |
| L-Histidine | 0.015 |
| Hydroxy-L-Proline | 0.02 |
| L-Isoleucine | 0.05 |
| L-Leucine | 0.05 |
| L-Lysine • HCl | 0.04 |
| L-Methionine | 0.015 |
| L-Phenylalanine | 0.015 |
| L-Proline | 0.02 |
| L-Serine | 0.03 |
| L-Threonine | 0.02 |
| L-Tryptophan | 0.005 |
| L-Tyrosine • 2Na • 2H2O | 0.02883 |
| L-Valine | 0.02 |
| vitamines | |
| D-biotine | 0.0002 |
| chlorure de choline | 0.003 |
| Acide folique | 0.001 |
| Myo-Inositol | 0.035 |
| Niacinamide | 0.001 |
| Acide p-aminobenzoïque | 0.001 |
| D-acide pantothénique (hémicalcium) | 0.00025 |
| Pyridoxine• HCl | 0.001 |
| riboflavine | 0.0002 |
| Thiamine• HCl | 0.001 |
| La vitamine B12 | 0.000005 |
| autre | |
| D-Glucose | 2 |
| Le glutathion (réduit) | 0.001 |
| Le rouge de phénol • Na | 0.0053 |
| Supplements | |
| L-Glutamine | - |
| Le bicarbonate de sodium | 2 |

# *Publications*

## *Publication N°1*

## ***Publication N°2***

## الملخص

أصبحت المقاومة ضد المضادات الحيوية ، مشكل يهدد الصحة العامة و ذلك بسبب اكتساب الكائنات المجهرية المسببة للامراض مقاومة ضد العديد من المضادات الحيوية. البحث عن بدائل طبيعية فعالة يعد محور اساسي للحد من هته الظاهرة، و لهذا تعد النباتات الطبيعية المستعملة في الطب التقليدي البديل الامثل لحل هته الاشكالية.

قمنا في هته الدراسة باختيار النبتة: *Pituranthos scoparius* المعروفة باسم "القزاح" على اساس تحقيق ميداني قمنا به على مستوى منطقة بشار، تستخدم هته النبة كعلاج فعال للعديد من الامراض.

بعد تحضير مختلف المستخلصات المائية و العضوية ، تمتت دراسة مختلف المكونات الكميائية لكل مستخلص ، النتائج المتحصل عليها تبين غنى النبتة بمختلف العائلات من المركبات الكميائية بنسب متفاوتة، و ذلك على حسب جزء النبتة المستعمل، المذيب و طريقة الاستخراج.

لدراسة فعالية النبتة كمضاد للاكسدة قمنا باستعمال طريقتين : الاولى طريقة الكسح الراديكالية المضادة للاكسدة على DPPH و الثانية طريقة ارجاع الحديد (FRAP) . النتائج المتحصل عليها تبين فعالية هته النبتة كمضادة للاكسدة .

تطرقنا ايضا لداسة نشاط المركبات المستخرجة على السلالات البكتيرية ، الخمائر و العفن بطرق نوعية و كمية موحدة. تبين النتائج ان المستخلصات الخامة Eau/méthanol Eau/acétone المتحصل عليها بطريقة النقع لمدة 24 ساعة اثبتت فعالية ضد الميكروبات مقارنة بالمستخلصات الاخرى. و اخيرا قمنا بدراسة سميّة المستخلصات الفعالة ، اظهرت النتائج ان المستخلصات المتحصل عليها بطريقة الاستخراج مع التسخين تتعتبر اقل سميّة من باقي المستخلصات.

سمحت لنا النتائج الاولية بمعرفة فعالية المستخلصات الخام كمضادة للاكسدة و مضادة للميكروبات التي تستحق دراسات بيولوجية كيميائية واسعة و معمقة بغية عزل المركبات المسؤولة عن فعالية النبتة

**الكلمات المفتاحية**: النباتات الطبية، المركبات الطبيعية، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات، النشاط المضاد للاكسدة، التسمم.

## Résumé

L'antibiorésistance est devenue un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Les micro-organismes responsables des maladies infectieuses deviennent insensibles aux antimicrobiens conventionnels. Ainsi, la recherche de nouvelles molécules actives devient impérieuse afin de lutter contre ce phénomène. Les composés naturels, issus de plantes constituent une voie intéressante à explorer. Cette étude est consacrée à l'évaluation des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes d'extraits aqueux et organiques de *Pituranthos scoparius* Benth et Hook, plante médicinale native du Sahara. Elle a été sélectionnée sur la base d'une enquête ethnopharmacologique réalisée auprès de la population de la région de Béchar, qui a révélé que cette plante est utilisée comme remède pour soigner de nombreuses maladies. L'analyse phytochimique des extraits a révélé une composition et une répartition variable en métabolites secondaires selon l'organe de la plante, le solvant et la méthode d'extraction utilisée.

L'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits a été faite par deux méthodes, le piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer (FRAP). Les résultats montrent que les extraits présentent une activité antioxydante intéressante. L'étude de l'activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis d'un certain nombre de souches bactériennes, de levures et de moisissures par des techniques qualitatives et quantitatives standardisées afin de déterminer les CMI et les CMB a montré que le pouvoir antimicrobien des extraits bruts eau/méthanol et eau/acétone obtenus par macération pendant 24h de la partie aérienne, est plus important comparé à celui des autres extraits. L'évaluation de la cytotoxicité des extraits de *Pituranthos scoparius* a montré que les extraits obtenus par la technique d'extraction sous reflux en chauffant sont moins toxiques que les autres.

En conclusion, ces résultats préliminaires nous ont permis de mettre en évidence l'effet antimicrobien et antioxydant des extraits bruts de *Pituranthos scoparius*, qui méritent des études chimiques et biologiques approfondies afin d'identifier et de caractériser les composés responsables de ces activités et tenter de connaitre leurs mécanismes d'action en vue d'être utilisés comme agent antimicrobien seuls ou comme adjuvant aux antimicrobiens conventionnels.

**Mots clés** : plante médicinale, *Pituranthos scoparius*, métabolites secondaires, activité antibactérienne, activité antifongique, activité antioxydante, toxicité.

## Abstract

Antibiotic resistance has become a major public health problem over the world. The micro-organisms responsible for the infectious diseases become immune to conventional antimicrobials. Thus the research for new active molecules becomes imperative. The natural compounds from plants are an interesting source to explore. This study is devoted to the evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of aqueous and organic extracts from *Pituranthos scoparius* Benth and Hook, native medicinal plant of the Sahara. The plant was selected on the basis of ethnopharmacological investigation of the population of Bechar, which revealed that this plant is used as a remedy to cure many diseases. The phytochemical analysis of extracts revealed a variable composition and distribution of secondary metabolites according to the organ of the plant, the solvent and the extraction method.

The evaluation of the antioxidant activity of different extracts was done by two methods: trapping of free radical DPPH and the reduction of iron (FRAP). The results show that the extracts have interesting antioxidant activity. The antimicrobial activity of different extracts was determined on bacterial strains, yeast and mold, using standardized qualitative and quantitative techniques to determine the MIC and MBC. The results show that the antimicrobial potency of the crude extracts aqueous/methanol extract and aqueous/acetone extract obtained by maceration (24h) of the aerial part is more important compared to other extracts. The evaluation of the cytotoxicity of extracts of *Pituranthos scoparius* showed that the extracts obtained by heating are less toxic than the others.

In conclusion, these preliminary results have allowed us to highlight the antioxidant and the antimicrobial effect of crude extracts of *Pituranthos scoparius* that deserve extensive chemical and biological studies to identify and characterize the compounds responsible for these activities and attempt known to elucidate their mechanism of action in order to be used as antimicrobial agent alone or an adjunct to conventional antimicrobials.

**Keywords:** Medicinal plant, *Pituranthos scoparius*, secondary metabolites, antibacterial activity, antifungal activity, antioxydant activity, toxicity.